



JAANA PASANEN

ÖLJYISEN MAAN JA JÄTTEEN MIKROBIOLOGINEN PUHDISTUS

VESI- JA YMPÄRISTÖHALLITUS
Helsinki 1991

76

JAANA PASANEN

ÖLJYISEN MAAN JA JÄTTEEN MIKROBIOLOGINEN PUHDISTUS

VESI- JA YMPÄRISTÖHALLITUS
Helsinki 1991

Etukannen kuva: Kotkan rautapihalta kesällä 1990 kerättyä öljyistä soraa ja mitä sille tehdä?
Kuva: J-P Hirvi, VYH

Tekijä on vastuussa julkaisun sisällöstä, eikä siihen voida vedota
vesi- ja ympäristöhallituksen virallisena kannanottona.

VESI- JA YMPÄRISTÖHALLINNON JULKAISUJA koskevat tilaukset:
Valtion painatuskeskus, PL 516, 00101 Helsinki
puh. (90) 56 601/julkaisutilaukset

ISBN 951-47-4720-8
ISSN 0786-9592

HELSINKI 1991

Julkaisija

Vesi- ja ympäristöhallitus

Julkaisun päivämäärä

7.6.1991

Tekijä(t) (toimielimestä: nimi, puheenjohtaja, sihteeri)

Jaana Pasanen

Julkaisun nimi (myös ruotsinkielinen)

Öljiyisen maan ja jätteen mikrobiologinen puhdistus

Mikrobiologisk rening av jord och avfall, som förorenats av olja

Julkaisun laji

Kirjallisuusselvitys

Toimeksiantaja

Vesi- ja ympäristöhallitus

Toimielimen asettamispvmJulkaisun osatTiivistelmä

Öljiy hiilivetyjä hajottavia mikrobeja on kaikkialla luonnossa. Luonnon mikroflooraa voidaan käyttää hyväksi öljyisiä maita ja jätteitä puhdistettaessa.

Öljiyisen maan ja jätteen mikrobiologiset puhdistusmenetelmät voidaan jakaa kolmeen ryhmään: peltokäsittelyn ja kompostoinnin sisältäviin on site -menetelmiin, itse onnettomuuspaikalla tehtäviin in situ -menetelmiin ja bioreaktoreihin, missä öljyinen maa puhdistetaan hyvin kontrolloiduissa olosuhteissa.

Suomen ilmasto-olosuhteisiin sopiva tehokas ja ympäristöystävällinen mikrobiologinen öljyisen maan ja jätteen puhdistusmenetelmä on kompostointi. Peltokäsittelyyn verrattuna on ympäristönäkökohdat kompostoinnissa vielä tarkemmin otettu huomioon, lisäksi käsittelyaika on siinä lyhyempi ja tilan tarve pienempi.

Mikrobiologiset in situ -menetelmät maalla ja merellä tapahtuneissa öljyonnettomuuksissa sekä bioreaktorit ovat vielä kehitteillä olevaa teknologiaa. Merialueilla tapahtuneissa öljyonnettomuuksissa toistaiseksi vielä ainoa mikrobiologinen puhdistusmenetelmä on jätteen mekaaninen keruu merestä ja kompostoiminen maalla. Suomessa ei toistaiseksi ole tehty vielä yhtään mikrobiologista in situ -kunnostusta maalla tai merellä.

Asiasanat (avainsanat)

Öljiy, saastuminen, mikrobit, mikrobiologiset menetelmät, puhdistus

Muut tiedotSarjan nimi ja numeroVesi- ja ympäristöhallinnon julkaisuja
- sarja A 76ISBN

951-47-4720-8

ISSN

0786-9592

Kokonaissivumäärä

76

Kieli

suomi

HintaLuottamuksellisuus

julkinen

JakajaValtion painatuskeskus
Pl 516, 00101 HelsinkiKustantajaVesi- ja ympäristöhallitus
Pl 250, 00101 Helsinki

Utgivare

Vatten- och miljöstyrelsen

Utgivningsdatum

7.6.1991

Författare (uppgifter om organet: namn, ordförande, sekreterare)

Jaana Pasanen

Publikation (även den finska titeln)

Öljyisen maan ja jätteen mikrobiologinen puhdistus

Mikrobiologisk rening av jord och avfall, som förorenats av olja

Typ av publikation

Litteraturutredning

Uppdragsgivare

Vatten- och miljöstyrelsen

Datum för tillsättandet av organetPublikationens delarReferat

Oljenedbrytande bakterier finns rikligt i naturen. Den naturliga mikrofloran kan utnyttjas vid rening av oljeförorenad jord och oljeförorenat avfall.

Reningsmetoderna för oljeförorenad jord och oljeförorenat avfall kan indelas i tre grupper: "on site"-metoder som innefattar kompostering och "landfarming", in situ-metoder på själva olycksplatsen och bioreaktorer där oljeförorenad jord renas under väl kontrollerade förhållanden.

Kompostering är en mycket lämplig och miljövänlig mikrobiologisk metod för rening av oljeförorenad jord och oljeförorenat avfall. Miljöaspekterna är bättre beaktade i kompostering jämfört med "landfarming", dessutom är behandlingstiden kortare och utrymmesbehovet mindre vid kompostering.

Teknologin för mikrobiologiska in situ-metoder för olyckor på havet eller på land och bioreaktorerna är ännu under utveckling. Den enda mikrobiologiska reningsmetoden för olyckor på havet är tillsvidare kompostering av oljeförorenat avfall som mekaniskt samlas från havet.

I Finland har tillsvidare ännu inga mikrobiologiska in situ-reningsprojekt genomförts.

Nyckelord

olja, förorening, mikrober, mikrobiologiska metoder, rening

Övriga uppgifterSeriens namn och nummerVatten- och miljöförvaltningens publikationer
- serie A 76ISBN

951-47-4720-8

ISSN

0786-9592

Sideantal

76

Språk

Finska

PrisSekretessgrad

Offentlig

DistributionStatens tryckericentral
PB 516, 00101 HelsingforsFörlagVatten- och miljöstyrelsen
PB 250, 00101 Helsingfors

S I S Ä L L Y S

Sivu

	ALKUSANAT.....	7
1	JOHDANTO.....	9
2	ÖLJYN KOOSTUMUS, JALOSTUS JA OMINAISUUDET.....	10
3	ÖLJYN HIILIVETYJEN KULKEUTUMINEN MIKROBISOLUUN..	10
4	HIILIVETYJEN HAJOAMISEN GENEETTISTÄ TAUSTAA.....	12
4.1	Plasmidit.....	12
4.2	Hiilivedyn hajotustie.....	13
4.3	Geenien säätely.....	14
4.4	Geneettisen materiaalin liikkuvuus.....	14
4.5	Hajotuskyvyn evoluutio.....	15
5	ÖLJYN HIILIVETYJEN MIKROBIOLOGINEN HAJOAMINEN...	16
5.1	Alifaattiset hiilivedyt: suoraketjuiset ja haaroittuneet alkaanit.....	17
5.2	Alisykliset hiilivedyt (rengasrakenteiset hiilivedyt).....	18
5.3	Aromaattiset hiilivedyt.....	19
5.4	Kaasumaiset hiilivedyt.....	21
5.5	Alkeenit.....	22
6	HIILIVETYJEN MIKROBIOLOGISEEN HAJOAMISEEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT.....	22
6.1	Mikrobit maassa.....	22
6.2	mikrobit merissä.....	23
6.3	Mikrobit suolattomissa vesissä.....	24
6.4	Öljyn fysikaalinen tila ja maan rakenne.....	25
6.5	Öljypitoisuus.....	26
6.6	Lämpötila.....	27
6.7	Happi ja maan kosteus.....	28
6.8	Ravinteet.....	30
6.9	pH.....	33
6.10	Saliniteetti ja paine.....	34
6.11	Öljykomponenttien hajoavuus.....	34
7	ÖLJYONNETTOMUUDET MERELLÄ.....	36
8	ÖLJYONNETTOMUUDET MAALLA.....	39
8.1	<u>In situ</u> -menetelmät.....	40
8.1.1	Öljy maan pintakerroksessa.....	41
8.1.2	Öljy syvällä maassa.....	41
8.1.3	Menetelmän toteutus.....	45
8.2	<u>On site</u> -menetelmät.....	47
8.2.1	Pelto käsittely.....	47
8.2.1.1	Periaate ja vaatimukset.....	47
8.2.1.2	Toteutus.....	49
8.2.2	Kompostointi.....	52
8.2.2.1	Periaate ja vaatimukset.....	52
8.2.2.2	Toteutus.....	53
8.2.3	Bioreaktori.....	59
9	YHTEENVETO.....	61
	KIRJALLISUUS.....	63

A L K U S A N A T

Vesi- ja ympäristöhallitus tilasi vuonna 1990 Helsingin yliopiston mikrobiologian laitokselta kirjallisuusselvityksen, jonka tavoitteeksi asetettiin

- selvittää kokemuksia ja tutkimustuloksia mikrobiologisesta öljyn hävittämisestä ja tähän liittyvistä mekanismeista ja menetelmistä sekä

- arvioida edullisten ja tehokkaiden mikrobiologisten menetelmien valintaa öljyvahinkojen yhteydessä syntyvien öljypitoisten jätteiden hävittämiseksi rannoilla tai vahinkopaikoilla ja/tai edelleen kaatopaikoilla.

Kirjallisuusselvityksessä keskityttiin vuoden 1975 jälkeen julkaistuihin tutkimusraportteihin. Tavoitteena oli edesauttaa vesi- ja ympäristöhallituksessa suunnitteilla olevaa ohjetta öljyjätteiden hävittämiseksi.

Selvitystyön laati FK Jaana Pasanen. Työtä varten perustettiin tukiryhmä, johon kuuluivat vt. professori Seppo Niemelä mikrobiologian laitokselta, toimitoinsinööri Kari Lampela, teknillinen tarkastaja Kalervo Jolma ja vanhempi tutkija Juha-Pekka Hirvi vesi- ja ympäristöhallituksesta.

Vesi- ja ympäristöhallitus esittää parhaat kiitokset työhön osallistuneille henkilöille.

Helsingissä 7.6.1991

VESI- JA YMPÄRISTÖHALLITUS

1 J O H D A N T O

Sisäasiainministeriön ongelmajätteitä koskevan päätöksen (576/79) mukaan öljyä sisältävät jätteet ovat ongelmajätteitä. Öljyisiä jätteitä ovat mm. öljynjalostamoiden jätevedenpuhdistuksen lietteet, merellä tapahtuneissa öljyvahingoissa kerätty vesiöljyseokset ja märät öljyiset turpeet sekä öljyvuotojen seurauksena syntyneet öljyiset maat. Öljyjätteiden käsittelyssä ja hävittämisessä on asianmukaisesti noudatettava jätehuoltolaissa annettuja ohjeita ja määräyksiä.

Viime aikoina on keskusteltu paljon öljyisen jätteen ja maan käsittelyyn liittyvistä ympäristönäkökohdista. Öljyisen jätteen polttoa on kritisoitu siinä syntyvien myrkyllisten yhdisteiden vuoksi. Lisäksi poltto on kallis käsittelymenetelmä. Öljyistä maata voidaan puhdistaa ja jätteitä hävittää lopullisesti ja ympäristöystävällisesti hyvin suunnitelluilla ja asianmukaisesti hoidetuilla mikrobiologisilla menetelmillä. Tällä hetkellä jo olemassa olevia mikrobiologisia menetelmiä voitaisiin soveltaa yleisesti öljyisen maan ja jätteen käsittelyyn. Mikrobiologisten menetelmien kehitystä ja käytäntöön soveltamista ovat hidastaneet alalla vallitsevat asenteet ja ennakkoluulot. Biotekniset menetelmät vastaavat tulevaisuuden haasteisiin

Öljyn hiilivetyjä hajottavia mikrobeja on kaikkialla luonnossa. Luonnon mikrofloora voidaan erinomaisesti käyttää hyväksi öljyn saastuttamia alueita puhdistettaessa ja öljyjätteitä hävitettäessä. Öljyn hajotusta voidaan tehostaa säätämällä fysikaalisia ja kemiallisia olosuhteita suotuisiksi biologiselle hajoamiselle. Lisäksi saastuneeseen maahan voidaan lisätä öljyä ravintonaan käyttäviä tai sitä muuten hajottavia mikrobeja.

Tässä selvityksessä tarkastellaan öljyisen maan ja jätteen mikrobiologisia puhdistusmenetelmiä. Ensiksi selvitetään öljyn mikrobiologisen hajoamisen taustaa; hiilivetyjen mikrobiologista hajoamista ja siihen vaikuttavia tekijöitä. Seuraavaksi tutustutaan käytännön kokeisiin ja sovellutuksiin. Aiheen laajuuden vuoksi pohjavesien mikrobiologisia kunnostusmenetelmiä ei ole käsitelty.

Käytännön sovellutuksissa tarkastellaan varsinaisia perinteisiä mikrobiologisia menetelmiä (on site -menetelmät), kuten kompostointia ja peltokäsittelyä. Lisäksi tutustutaan vielä kehitteillä oleviin onnettomuusalueella tehtäviin öljyisen maan kunnostusmenetelmiin (in situ -menetelmät). Lopuksi tarkastellaan myös uutta teknologiaa edustavia bioreaktorimenetelmiä öljyisen maan puhdistuksessa.

2 Ö L J Y N K O O S T U M U S, J A L O S T U S J A O M I - N A I S U U D E T

Raakaöljyt ovat jalostamattomia, koostumukseltaan vaihtelevia öljyjä, jotka koostuvat tuhansista yhdisteistä. Pääasiallisesti niissä on kuitenkin hiilivetyjä ja niiden johdannaisia; pieniä määriä happea, rikkiä, typpeä ja metalleja sisältäviä yhdisteitä (heterosykliset yhdisteet). Raakaöljyn koostumus vaihtelee esiintymisalueittain ja merkittäviä eroja on todettu myös saman alueen eri öljynäytteiden välillä. Raakaöljyssä on satoja erilaisia hiilivetyä: n-alkaaneja (normaaliparafiineja), haaraketjuisia alkaaneja (iso-parafiineja), alisyklisiä (sykloparafiineja, nafteeneja) sekä aromaattisia hiilivetyjä. Raakaöljyssä happea sisältäviä yhdisteitä, etupäässä nafteenihappoja, on 0.1 - 3 %. Rikkiä sisältäviä yhdisteitä on 0.1 - 7 % ja typpi-yhdisteitä noin 0.01 %. Orgaanisten metalliyhdisteiden määrä on hyvin pieni. Yleisimmät metallit ovat vanadiini, nikkeli ja rauta (Davis 1967, Higgins ja Burns 1975).

Ensimmäisessä jalostusvaiheessa raakaöljy tislataan jakeiksi, jotka ovat usean eri hiilivedyn seoksia. Alenevan haihtuvuuden mukaan tislauksessa saatavat jakeet jaotellaan seuraavasti (Roberts ym. 1972).

1. Luonnonkaasu: C1-C4 hiilivetyjä, pääkomponentti metaani, kiehumispiste alle 0 °C.
2. Bensiini: C5-C10 hiilivetyjä, kiehumisalue 40-180 °C, yli 100:n eri yhdisteen seos; alkaaneja, sykloalkaaneja ja alkyylibentseenejä.
3. Keroseni: C11 ja C12 hiilivetyjä.
4. Dieselöljy: C13-C25 hiilivetyjä, kiehumisalue 250-400 °C.
5. Voiteluöljyt ja vahat: C26-C28, molekyyli-painoltaan raskaita hiilivetyjä, kiehumispiste erittäin korkea.
6. Tislausjäännös: mineraalien ja monimutkaisten, molekyyli-painoltaan raskaiden orgaanisten yhdisteiden seos (<C50); asfaltti ja bitumi.

Hiilivedyt ovat kemiallisesti suhteellisen inaktiivisia lukuunottamatta reaktiota hapen kanssa. Hiilivedyt liukenevat myös huonosti veteen ja niiden liukoisuus vähenee molekyylikoon kasvaessa (Atlas 1981).

3 Ö L J Y N H I I L I V E T Y J E N K U L K E U T U M I - N E N M I K R O B I S O L U U N

Öljyn hiilivedyt hajoavat mikrobisolun sisällä. Mikrobeja ympäröi eräänlainen vesifaasi, jonka kautta ne ottavat ravintoa soluunsa. Öljyn hiilivedyt eivät helposti pääse solun sisälle, koska ne liukenevat huonosti veteen. Mikrobisolu voi ottaa sisäänsä hiilivetyjä kolmella eri tavalla:

1. nestefaasiin liuenneen hiilivedyn käyttäminen
2. mikrobisolun suora kosketus öljyyn, joka on pisarakooltaan solua pienempi ($< 1 \mu\text{m}$ halkaisijaltaan)
3. mikrobisolun suora kosketus öljyyn, joka on pisarakooltaan solua suurempi ($> 1 \mu\text{m}$ halkaisijaltaan) (Singer & Finnerty 1984).

Mikrobien on todettu erittävän erilaisia ekstrasellulaarisia (solun ulkopuolisia) pinta-aktiivisia aineita, jotka lisäävät hiilivetyjen vesiliukoisuutta ja näin ollen niiden pääsyä solun sisälle. Hiilivetyjä emulsifioivia ja liukoiksi tekeviä aineita ovat tavallisesti mikrobien erittämät lipidit (rasvat). Mikrobista itsestään sekä hiilivedystä riippuu mitä pinta-aktiivisia aineita mikrobi tuottaa (Singer & Finnerty 1984).

Mikrobit pystyvät myös hajottamaan hiilivetyjä ilman pinta-aktiivisten aineiden eritystä. Toisaalta esimerkiksi järven vedestä ja sedimentistä eristetyistä kerosseenilla kasvavista bakteereista 96 % tuotti öljyä emulsifioivia aineita (Broderick & Cooney 1982).

Atlaksen (1981) mukaan joidenkin emulsioivien bakteerikantojen ei ole todettu pystyvän tehokkaaseen öljyn hajotukseen, mutta niiden tuottamat emulsifioivat aineet ovat voineet lisätä muiden bakteerien öljynhajotuskykyä.

Mikrobeilla on erilainen affiniteetti öljyn hiilivetyihin l. erilainen kyky käyttää hyväksi erilaisia hiilivetyjä. Jotkut mikrobit pystyvät käyttämään hyväksi monenlaisia hiilivetyjä, kun taas toiset ovat suhteellisen spesifisiä jollekin tietylle hiilivedylle (Singer & Finnerty 1984).

Paikka, missä hiilivetyjen oksidaatio tapahtuu ja missä itse hapettamisesta vastaavat entsyymit sijaitsevat vaihtelee eri mikrobeilla. Solun sisäisessä membraanissa tapahtuu oletettavasti hiilivetyjen oksidaatio ja siellä ovat myös hapettavat entsyymit. Lisäksi solun sisäinen membraani voi toimia kanavana hiilivetyjen siirrossa solun sisälle tai hiilivetyjä sisältäviin "rakkuloihin" (Ensley & Finnerty 1980, Ensley ym. 1981). Vaikka "rakkuloiden" tarkkaa merkitystä ei tiedetä, niiden on kuitenkin huomattu keräävän hiilivetyjä, sekä niiden membraanin sisältävän usein ekstrasellulaarisia rasvoja (Käppeli & Finnerty 1979).

Hiilivetyjä käytävillä sienillä on havaittu olevan monia pieniä sytoplasmisia mikrobodeja, missä rasvahappojen oksidaatiota on havaittu (esim. Fukui & Tanaka 1979).

4 H I I L I V E T Y J E N H A J O A M I S E N G E N E E T T I S T Ä T A U S T A A

Hiilivetyjen hajoamisen geneettisen taustan tutkimus on kehittynyt huomattavasti geeniteknologian käyttöönoton myötä. Hajottajamikrobin geenejä voidaan siirtää uusiin isäntiin, esimerkiksi E.coli:in, jolloin niitä on helpompi käsitellä, ja niiden rakennetta ja sekvenssejä (DNA:n emäsjärjestys) voidaan selvittää.

Mikrobiyhteisö, joka hajottaa öljyä adaptoituu. Öljynhajottajien määrä nousee ja vähitellen suurin osa mikrobeista on öljynhajottajia (Leahy & Colwell 1990). Mikrobit, jotka eivät pysty käyttämään saatavilla olevia hiilenlähteitä todennäköisesti kuolevat tai inaktivoituvat. Eloönjäävistä mikrobikannoista osa on sellaisia, jotka "oppivat" hajottamaan öljyn hiilivetyjä. Tällaista geenien muuntelua on havaittu eri bakteerikannoilla laboratorionkokeissa, kun mikrobit ovat kasvaneet kovan valintapaineen alla (Yrjälä 1991).

Geneettinen materiaali koostuu nukleiinihapoista, DNA:sta ja geeni on se kohta genettisessä materiaalissa, joka koodaa proteiineja, jotka voivat toimia entsyymeinä. Entsyymit katalysoivat, nopeuttavat kemiallisia reaktioita, ja hiilivetyjen hajoamisessa hajotusentsyymit mahdollistavat öljyn hiilivetyjen hajoamisen (Niemi ym. 1989).

4.1 PLASMIDIT

Suurin osa mikrobien geneettisestä materiaalista on kromosomeissa, mutta lisäksi bakteereilla on usein plasmideja: rengasmaista, itsenäisesti monistuvaa DNA:ta (Niemi ym. 1989).

Mikrobien adaptaatiossa plasmideilla voi olla tärkeä rooli. Tiedetään, että usean hiilivedyn hajotusgeenit voivat olla plasmideissa, kuten naftaleenin, oktaanin, ksyleenin ja tolueenin hajotusgeenit Pseudomonas-bakteereilla (Chakrabarty 1976). Lisäksi plasmidi-DNA on hyvin liikkuvaa geneettistä materiaalia, joka siirtyy bakteerista toiseen. Plasmidien siirtokyky vaihtelee: eräät plasmidit siirtyvät vain lähisukua oleviin bakteereihin (niillä on kapea isäntäkirjo), toiset siirtyvät lukuisiin eri lajeihin (niillä on laaja isäntäkirjo) (Leahy & Colwell 1990).

Plasmidit voidaan myös jakaa ryhmiin sen mukaan, voivatko ne olla samanaikaisesti bakteerisolussa (inkompabiliteettiryhmät). Samaan ryhmään kuuluvat plasmidit eivät voi samaan aikaan olla bakteerisolussa. Eri ryhmään kuuluvat plasmidit taas voivat olla, ja näin ne antavat bakteerille uusia ominaisuuksia (Leahy & Colwell 1990).

Kun mikrobipopulaation ympäristöön tulee öljyä, voi olla että kannat, joilla on hiilivetyjen hajotusentsyymejä koodaavia plasmideja, kasvavat ja lisääntyvät paremmin kuin muut kannat. Tämän seurauksena plasmidien määrä lisääntyy yhteisössä (Leahy & Colwel 1990). On todettu, että plasmidien määrä on ollut suurempi öljyllä saastuneessa maassa (Hada & Sizemore 1981) ja joen sedimentissä (Burton ym. 1982) kuin saastumattomassa ympäristössä.

Plasmidien rooli adaptaatiossa öljyllä saastuneessa ympäristössä on kuitenkin vielä epäselvä. Mikrobiyhteisön tutkiminen on hankalaa, mutta tulevaisuudessa uudet geeniprobi- ja hybridisaatiotekniikat tuovat lisävalaistusta asiaan.

4.2 HIILIVEDYN HAJOTUSTIE

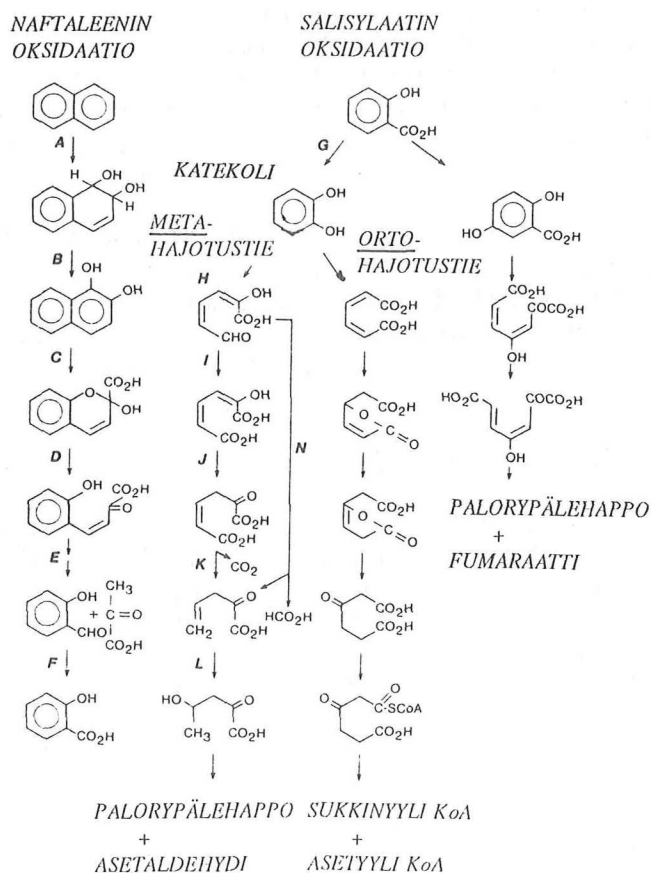
Aromaattiset hiilivedyt hajoavat usean eri välivaiheen kautta. Jokaista vaihetta katalysoi eri geeni, joka koodaa entsyymin synteesiä, tai useampi geeni, jos entsyymi on rakentunut useasta eri polypeptidistä. Tästä syystä yhden hajotustien entsyymejä voi olla yli kymmenen (Yen & Serdar 1988).

Aromaattisten hiilivetyjen hajotusgeenit ovat usein isoissa plasmideissa. Plasmidit ovat saaneet nimensä sen mukaan, mitä hajotusgeenejä niistä on löydetty; esim. NAH-plasmidissa ovat naftaleenin (Dunn & Gunsalus 1973), SAL-plasmidissa salisylaatin (Chakrabarty 1972) ja TOL-plasmidissa tolueenin hajotusgeenit (Williams & Murray 1974).

Hajotusgeenit voivat myös olla kromosomeissa, tai sekä kromosomissa että plasmidissa. Naftaleeni hajoaa salisylaatin kautta palorypälehapoksi ja asetaldehydiksi. Eräässä Pseudomonas putida-kannassa naftaleenin hajotusgeenit salisylaatiksi ovat kromosomissa ja geenit salisylaatin hajoamiseen edelleen ovat pMWD1-plasmidissa (Zuniga ym. 1981).

Bakteereissa geenit, joilla on samat tehtävät, esimerkiksi naftaleenin hajotusentsyymien koodaus, ovat järjestäytyneet ryhmiin, operoneihin. Naftaleenin hajotusgeenit ovat Nah-plasmidissa kahdessa operonissa. Ensimmäisessä operonissa ovat geenit nahABCDEF, jotka koodaavat naftaleenin hajoamisen salisylaatiksi. Tämä on ns. ylempi hajotustie. Toisessa operonissa ovat nahGHIJK -geenit salisylaatin oksidaatioon meta-hajotustien kautta asetaldehydiksi ja palorypälehapoksi. Tämä on ns. alempi hajotustie. Tärkeimmät geenit ja niiden koodaamat entsyymit ylemmässä hajotustiessä ovat nahA: naftaleenidioksygenaasi, nahB: cis-naftaleenidihydrodiolidehydrogenaasi, nahC: 1,2-dihydroksinaftaleenioksygenaasi ja alemmassa hajotustiessä nahG: salisylaattihydroksylaasi, nahH: katekolioksygenaasi, nahI: 2-hydroksimukonisemi-

aldehydidehydrogenaasi (kuva 1) (Yen & Serdar 1988).



Kuva 1. Naftaleenin ja salisylaatin hajotustiet *Pseudomonas* bakteereilla. Suuret kirjaimet vastaavat geenejä (Yen & Serdar 1988).

4.3 GEENIEN SÄÄTELY

Hajotusteiden toiminta on säädelty. Niiden aktivoituminen vaatii sekä indusorin että säätelygeenin tuotteen. Salisylaatti toimii indusorina, jolloin molempien operonien geenit aktivoituvat, ja hajotuksessa toimivien entsyymien tuotanto alkaa. Säätelögeenin tuote vaikuttaa vuorostaan operonien toimintaan. Tämä systeemi varmistaa, ettei turhaa entsyymien tuottamista tapahdu (Yen & Serdar 1988).

4.4 GENEETTISEN MATERIAALIN LIIKKUVUUS

Geneettisen materiaalin liikkuvuus vaikuttaa hajotuskykyjen evoluutioon. Kun plasmidia kantava bakteeri kohtaa toisen bakteerin, se voi luovuttaa plasmidinsa toiselle bakteerille (konjugaatio). Bakteeri pystyy ottamaan sisäänsä myös vapaata DNA:tta (transformaatio) (Niemi ym. 1989).

Bakteerivirukset, bakteriofaagit, voivat myös siirtää

geneettistä materiaali bakteerista toiseen (transduktio). Faageja on yleisesti mikrobiyhteisöissä, ja ne ovat usein lajispesifisiä (Niemi ym. 1989).

Geenit voivat myös siirtyä plasmidista kromosomiin ja päinvastoin. Eräät DNA-fragmentit siirtyvät helposti kromosomin sisällä, tai kromosomin ja plasmidin välillä (Niemi ym. 1989).

4.5 HAJOTUSKYVYN EVOLUUTIO

Maan ja veden mikrobiyhteisöillä on erinomaisen laaja valikoima hajotuskykyjä, ja ne pystyvät käyttämään suurimman osan luonnon tuottamista yhdisteistä hiilen- ja energianlähteenään. Lisäksi ne voivat kehittää uusia hajotuskykyjä, kun ne joutuvat tekemisiin vieraitten yhdisteiden kanssa. Esimerkiksi rikkakasvintorjunta-aineella, 2,4-D:llä, käsitellyillä pelloilla todettiin tapahtuneen mikrobien evoluutiota, kun maassa oli kehittynyt herbisidiä hajottavia mikrobikantoja (Yrjälä 1991).

Vaikka monet ympäristöön lisätyt kemikaalit eivät saa aikaan mikrobien hajotusgeenien kehittymistä, voidaan laboratoriossa edistää mikrobievoluutiota geenimanipulaation avulla. Laboratoriossa voidaan geneettisten tapahtumien taajuus tarkasti säädellä ja hajotusgeenien kehittymiseen tarvittavat selektiiviset olosuhteet optimoida. Mutaatioiden, geeniekspression vaihtelulla sekä geenisiirron avulla voidaan mikrobeja "opettaa" hajottamaan vaikeasti hajoavia yhdisteitä. Periaatteessa on olemassa kolme lähestymistapaa laboratoriossa suoritettuun evoluutioon:

1. Kemostaattirikastus, jolloin aiheutetaan pitkäaikainen selektiivinen paine mikrobien evoluutiolle käyttäen tiettyä hiilenlähdettä.
2. In vivo -geenisiirto, jolloin tarvittavia entsyymejä koodaavat geenit yritetään siirtää toiseen mikrobikantaan käyttäen hyväksi luonnon geneettisiä prosesseja, kuten transduktiota, konjugaatiota ja transformaatiota.
3. In vitro -evoluutio, jossa kloonatut hyvin karakterisoidut geenit selektiivisesti siirretään isäntämikrobiin uuden hajotustien synnyttämiseksi (Ramos & Timmis 1987).

Laboratoriossa suoritettulla nopeutetulla evoluutiolla voidaan siis saada entistä tehokkaampia hajottajakantoja. Geenimanipulaation avulla kehitettyjä bakteerikantoja on jo olemassa, mutta toistaiseksi niiden laskeminen ympäristöön on luvanvaraista. Parhaillaan selvitetään, mitä riskejä todellisuudessa on, kun manipuloitu kanta joutuu luontoon. Halutaan varmistua, ettei luonnossa muodostu lisätyn ja luonnon mikrobien välillä

tapahtuneen geneettisen materiaalin vaihdon myötä "superbakteereja", jotka ovat haitallisia. Halutaan myös tietää enemmän luonnossa tosiasiallisesti tapahtuvasta mikrobien vuorovaikutuksesta.

5 Ö L J Y N H I I L I V E T Y J E N M I K R O B I O L O - G I N E N H A J O A M I N E N

Täydellisessä mikrobiologisessa hajoamisessa öljy hajoaa kokonaisuudessaan hiilidioksidiksi ja vedeksi (öljy mineralisoituu). Öljyn mikrobiologinen hajoaminen ei kuitenkaan ole täydellistä, vain osa öljystä hajoaa CO_2 :ksi ja H_2O :ksi ja loppuosa solumassaksi ja hapetuksen välituotteiksi. Jos teoriassa oletetaan öljyn hajoamisen olevan 100 %, niin 50-70 % siitä hajoaa hiilidioksidiksi ja vedeksi (Bartha & Atlas 1987).

Tehokkaassa öljyseosten biologisessa hajoamisprosessissa toimivat monet erilaiset mikrobipopulaatiot. Mikrobit hajottavat eri tavoin erilaisia hiilivetyjä; jotkut hiilivedyt ovat helposti hajotettavia, jotkut taas hyvin vaikeasti tai biologisesti lähes hajoamattomia. Mikrobit tuottavat hiilivetyjä hajottavia entsyymejä yhtäjaksoisesti tai ainoastaan hetkellisesti ulkoisen ärsykkeen laukaisemana (entsyymi-induktio) (Singer & Finnerty 1984).

Hiilivetyjen tärkein ja yleisin mikrobiologinen hajoamistapa on aerobinen hapettuminen. Kun happea on saatavilla monet bakteerit, hiivat ja sienet käyttävät energianlähteenään hiilivetyjä ja näin hävittävät niitä maaperästä. Hapetusmekanismeja ei ole täysin pystytty selvittämään, mutta niitä on todennäköisesti useita mikrobista ja hiilivedyn rakenteesta riippuen (mm. Singer & Finnerty 1984).

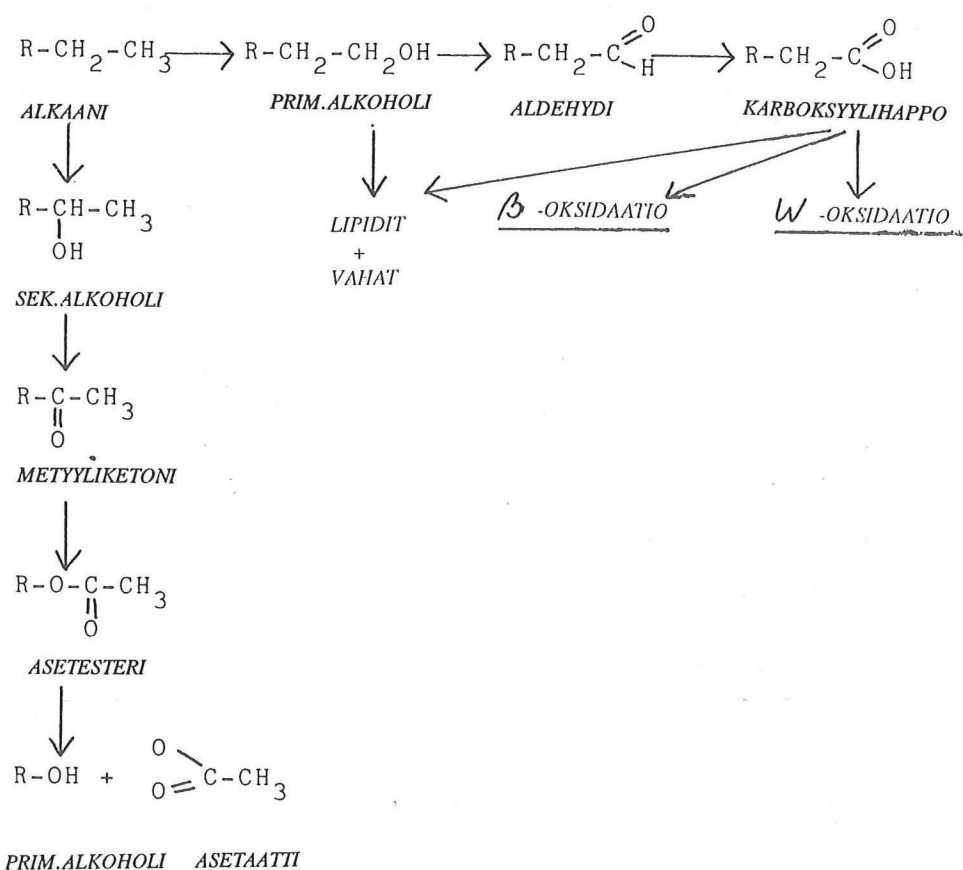
Laboratorioissa on todettu joidenkin mikrobien pystyvän anaerobisesti hajottamaan esimerkiksi aromaattisia hiilivetyjä. Luonnossa kuitenkin hiilivetyjen anaerobista hajoamista ei ole todettu, tai se on ollut hyvin pientä (Atlas 1981). Seuraavassa käsittelen pelkästään hiilivetyjen aerobista hajoittamista.

Mikrobiologisesti vaikeasti hajoavien hiilivetyjen, esim. syklisten ja aromaattisten hiilivetyjen on todettu hajoavan ko-oksidaatiivisesti. Ko-oksidaatiossa mikrobi hajottaa hiilivetyä, jota se ei kuitenkaan voi itse käyttää hiilen ja energian lähteenään. Se saa energiansa hapettamalla samanaikaisesti jotain muuta yhdistettä. Sen sijaan yhdistettä, jota ko. mikrobi ei pystynyt käyttämään omaan kasvuunsa, voi edelleen käyttää joku muu mikrobi (Singer & Finnerty 1984). Kometaboliassa syntyy usein enemmän kuin tavallisessa oksidaatiossa hiilivetyjen osittain hapettuneita välituotteita (Bartha & Atlas 1987).

5.1 ALIFAATTISET HIILIVEDYT: SUORAKETJUISET JA HAAROITTUNEET ALKAANIT

Alkaanien mikrobiologinen hajotus voi hiilivedyn rakenteesta johtuen tapahtua kolmella tavalla riippuen siitä mihin kohtaan molekulaarinen happi sidotaan hiilivedyssä. Erotetaan 1) monoterminaalinen, 2) diterminaalinen ja 3) subterminaalinen oksidaatio. Hajoamisessa syntyy pääasiassa rasvahappoja. Se miksi jotkut mikrobit hajottavat lyhytketjuisia ja jotkut toiset pitkäketjuisia alkaaneja on epäselvää (Singer & Finnerty 1984).

Yleisesti alkaanit hapettuvat pääasiallisesti monoterminaalisen oksidaation kautta, jolloin hapettuu ensin terminaalinen metyyli-ryhmä (kuva 2).



Kuva 2. Alkaanien mono- ja subterminaalinen hapettaminen (Hammer & Liemann 1976).

Alkaani hapettuu primaarisiksi alkoholiksi, sitten aldehydiksi ja edelleen karboksyylihapoksi. Muodostunutta karboksyylihappoa mikrobi voi käyttää rakennus- ja varastoaineittensa synteesiin tai hapettaa sen edelleen -oksidaation kautta asetaatiksi tai propionaatiksi (Singer & Finnerty 1984).

Monien mikrobien on myös todettu hapettavan alkaaneja diterminaalisesti. Alkaanit hapetetaan monoterminaalisesti karboksyylihappeihin asti. Seuraavaksi karboksyylihapot hapetetaan - oksidaatiolla hydroksirasvahapoiksi ja sitten dikarboksyylihapoiksi (Singer & Finnerty 1984).

Bakteerit, jotka käyttävät alkaaneja ainoana hiilen ja energian lähteenään, hapettavat alkaaneja todennäköisesti ennen kaikkea monoterminaalisesti. Sen sijaan alkaaneja hapettavat subterminaalisesti ne bakteerit, jotka eivät kykene käyttämään hapetamaansa hiilivetyä hiilen- ja energianlähteenään. Nämä bakteerit hapettavat samanaikaisesti ko-oksidaation kautta jonkun muun hiilen ja energian lähteeksi kelpaavan substraatin (Markovetz 1971). Subterminaalisessa oksidaatiossa muodostuu dioleja, hydroksiketoneja, aldehydejä, estereitä ja hydroksirasvahappoja (Rehm & Reiff 1981).

Haaraketjuisten alkaanien hajoamista on tutkittu vähemmän kuin suoraketjuisten alkaanien (Singer & Finnerty 1984). Suoraketjuisten alkaanien hapetuksen on todettu vähentävän haaraketjuisten alkaanien hapetusta (Pirnik ym. 1974). Haaraketjuisten alkaanien vaikeampi mikrobiologinen hajoaminen voi johtua:

- myrkyllisyydestä mikrobeille
- mikrobien kyvyttömyydestä ottaa niitä sisälle soluun
- ne eivät pysty indusoimaan mikrobien oksidaatiota
- mikrobien entsyymien kyvyttömyydestä hajottaa haaraketjuisia alkaaneja (Singer & Finnerty 1984).

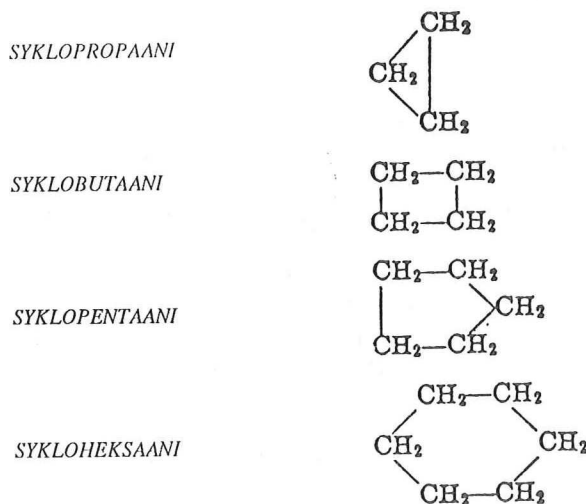
Useiden mikrobien on todettu hajottavan kaksi metyyliiryhmää sisältäviä haaraketjuisia alkaaneja. Sen sijaan vain hyvin harvat mikrobit pystyvät hajottamaan kolme metyyliiryhmää sisältäviä haaraketjuisia alkaaneja (McKenna 1972).

5.2 ALISYKLISET HIILIVEDYT (RENGASRAKENTEISET HIILIVEDYT)

Alisyklisten hiilivetyjen on todettu olevan mikrobiologisesti hyvin vaikeasti hajoavia (kuva 3) (Perry 1984). Pääpiirteittäin sykloalkaanien hapettaminen tapahtuu kahden eri oksigenaasisysteemin kautta. On epätodennäköistä, että yhdellä mikrobilla on kumpaankin hapetusreaktioon tarvittavat entsyymit, joten sykloalkaanien hapettamiseen tarvitaan monta eri mikrobia (ko-oksidaatio) (Bartha 1986).

Esimerkiksi de Klerk & van der Linden (1974) yhdistivät kaksi eri Pseudomonas -bakteerikantaa ja onnistuivat hajottamaan sykloheksaania, jota kumpikaan kannoista ei yksinään kyennyt hajottamaan. Toinen kanta hajotti sykloheksaania ko-oksidaati-

visesti sykloheksanoliksi käyttäen n-heptaania energianlähteenään. Muodostunut sykloheksanoli toimi edelleen toisen kannan energianlähteenä, joka hajotti sitä edelleen sykloheksanoniksi.



Kuva 3. Alisyklisiä hiilivetyjä

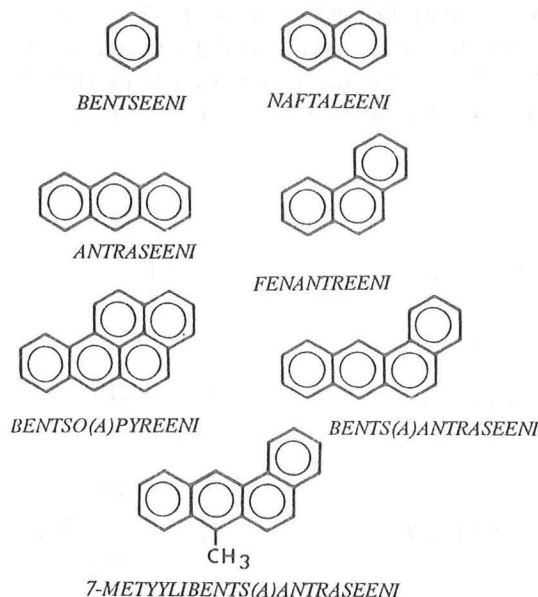
Sykloalkanoliksi ja sykloalkanoniksi hapetettujen sykloalkaanien rengasrakenteet hajoavat edelleen laktoonivälivaiheen kautta (Perry 1984).

Alkyyli-substituoiduilla alisyklisillä hiilivedyillä oksidaatio voi alkaa joko hiilivedyn sivuketjusta tai itse renkaasta. Mitä enemmän hiilivedyillä on substituentteja, sitä monimutkaisempia tuotteita syntyy oksidaatiossa. Oksidaatioon vaikuttavat myös renkaissa olevat kaksoissidokset (Perry 1984).

Monosykliset yhdisteet; syklopentaani, sykloheksaani, sykloheptaani liuottavat mikrobien lipidimembraania (rasvamembraania), ja ovat hyvin myrkyllisiä monille hiilivetyjä hajottaville mikrobeille (Bartha 1986).

5.3 AROMAATTISET HIILIVEDYT

Aromaattiset hiilivedyt muodostuvat yhdestä (monoaromaatit) tai useammasta (polyaromaatit) bentseenirenkaasta (kuva 4). Moniin aromaattisiin hiilivetyihin on liittynyt erilaisia alkyyli-substituentteja tai heterosyklisiä molekyylejä, joissa on typpeä, happea tai rikkiä. Suurin osa polyaromaattisista hiilivedyistä on myrkyllisiä ja karsinogeeneja (Cerniglia 1984).

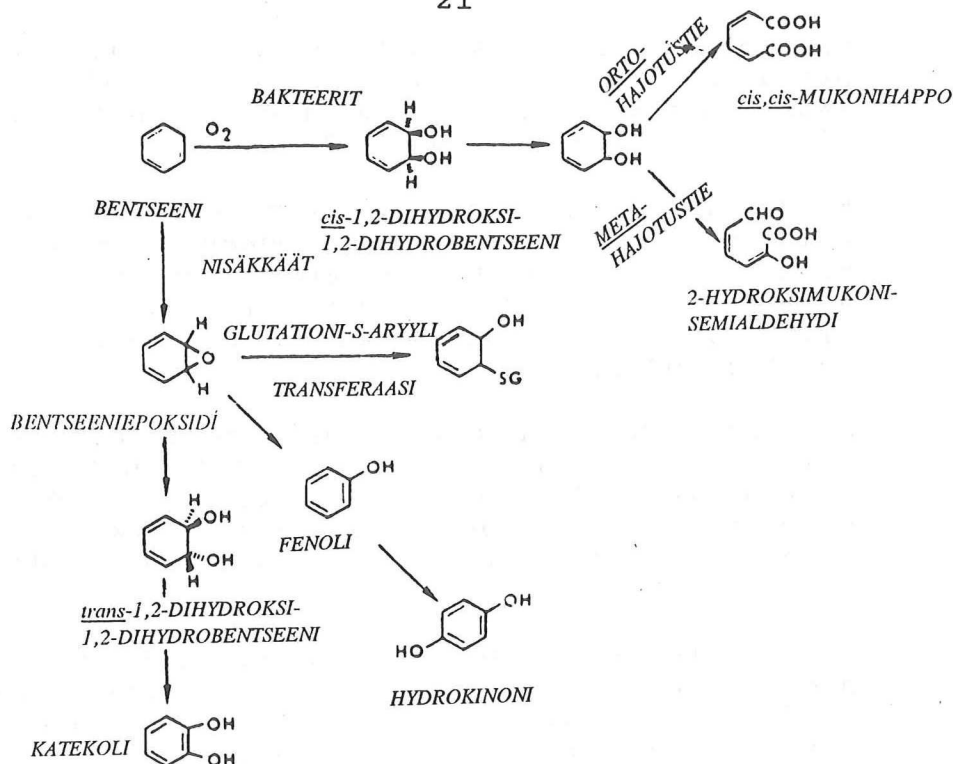


Kuva 4. Aromaattisia hiilivetyjä

Vaikka laboratoriossa on todettu monien bakteerien pystyvän hajottamaan polyaromaatteja, niin luonnossa tapahtuvasta hajotuksesta tiedetään vielä suhteellisen vähän (Cerniglia 1984). Aromaattien mikrobiologinen hajotus vähenee, mitä enemmän niissä on bentseenirenkaita ja alkyylisubstituentteja (alkyylisivuketjuja). Mikrobit eivät voi käyttää energianlähteenään aromaatteja, joissa on enemmän kuin neljä rengasta, sen sijaan näitä aromaatteja voidaan hajottaa kometabolisesti (Bartha 1986).

Pääpiirteittäin bakteerit hajottavat polyaromaatteja dioksigenaasientsyymien avulla liittämällä ensin 2 happimolekyyliä bentseenirenkaaseen, jolloin muodostuu cis-rakenteessa oleva dihydrodioli (Gibson 1977). Kuitenkin jos aromaattissa on sivuketju, kuten esimerkiksi tolueenissa metyyli-ryhmä (CH_3 -ryhmä), voi hapetus alkaa myös sivuketjun hapetuksella. Kummassakin tapauksessa kuitenkin hajoamisen edistyessä päämetaboliittina on katekoli (kuva 5) (Cerniglia 1984).

Katekoli, joka on aromaattien bakteerihajotuksessa päämetaboliitti, hajoaa kahden eri hajotustien kautta: meta- tai orto-hajotustietä. Orto-hajotustieessä katekolin rengas aukeaa hydrok-syyli-ryhmien välistä ja meta-hajotustieessä hydrok-syyli-ryhmien vierestä. Molempia reaktioita katalysoivat dioksigenaasientsyymit. Orto-hajotustieessä syntyy cis,cis-mukonaattia ja meta-hajotustieessä 2-hydroksimukonisemiaaldehydiä, jotka hajotetaan edelleen solun normaaleiksi välituotteiksi (Cerniglia 1984).



Kuva 5. Nisäkkäiden, sienien sekä bakteerien bentseenin hajotus (Cerniglia 1984).

Sienten on todettu hajottavan polyaromaatteja samaan tapaan kuin nisäkkäiden entsyymisysteemissä tapahtuu (ks. kuva 5) (Cerniglia 1981).

Bakteerien ja sienten lisäksi syanobakteerien (sinivierherlevät) ja joidenkin levien (*Chlorophyta*, *Chrysophyta*, *Rhodophycophyta*, *Phaeophycophyta*) on todettu hajottavan naftaleenia. Vesiekosysteemeissä tällä hajotuksella voi olla suurikin merkitys (Cerniglia ym. 1980a).

Vaikka antraseeni (ks. kuva 4) ja sen metaboliitit eivät ole akuutisti toksisia, niin antraseenin rakenne on löydettävissä karsinogeenisistä bentso-pyreenistä, bentsoantraseenistä ja 3-metyyli-kolantreenistä (Cerniglia 1984). Monien bakteerien on todettu hajottavan antraseenia (mm. Patel & Gibson 1974). Myös *Cunnighamella elegans* -sienen on todettu hajottavan antraseenia (Cerniglia 1982).

Polyaromaattisista hiilivedyistä bentso(a)pyreeni on yksi eniten tutkituista. *Cunnighamella elegansin* bentso(a)pyreenin hajotuksessa on todettu muodostuvan erittäin myrkyllisiä yhdisteitä (dihydrodioliepoksiedejä) (Cerniglia ym. 1980b).

5.4 KAASUMAISET HIILIVEDYT

Koska mikrobit elävät vesifaasissa, niin kaasumaisten hiilivetyjen täytyy jossain määrin kyetä liukenemaan

veteen, jotta mikrobit voisivat käyttää niitä hyväksi. Kaasumaisten hiilivetyjen veteen liukenemiskyky on olennainen edellytys niiden mikrobiologiselle hajoamiselle (Vestal 1984).

Kaasumaisten hiilivetyjen mikrobiologinen hajoaminen voidaan jakaa kahteen osaan: metaanin (ja mahdollisten yhden hiilimolekyylin sisältävien yhdisteiden) mikrobiologinen hajoaminen sekä useampia hiilimolekyyliä sisältävien hiilivetyjen hajotus (Vestal 1984).

Metaani (CH₄) on erikoinen kaasumainen hiilivety, sillä se on ainoa, jota mikrobit tuottavat suuria määriä (mm. Higgins ym. 1981). Mikrobit, jotka pystyvät hapettamaan sitä, eivät kykene useinkaan hapettamaan suurimolekyyllisempiä hiilivetyjä (mm. Perry 1980).

Metaanilla kasvavat eli metyilotrofiset bakteerit hapettavat metaanin mono-oksygenaasientsyymin avulla ensin metanoliksi, sitten formaldehydiksi, formiaatiksi ja lopulta hiilidioksidiksi (mm. Dalton 1980).



5.5 ALKEENIT

Alkeenit ovat tyydyttymättömiä, kaksoissidoksellisia alkaaneja. Alkaaneja syntyy raakaöljyn krakkauksessa; niitä on erityisesti jalostetuissa öljyissä (Bartha 1986).

Alkeenien mikrobiologista hajoamista on tutkittu vähemmän kuin vastaavien alkaanien. Alkeenien hapettuminen voi alkaa hiilivedyn tyydyttyneestä päästä samalla tavalla kuin alkaanien. Toisaalta on todettu myös kaksoissidoksen hapettumista epoksidaatiolla. Syntynyt epoksidi hajotetaan luultavasti dioliksi, sitten karboksyylihapoksi, rasvahapoksi ja primaariseksi alkoholiksi (Bartha & Atlas 1987).

Alkeenien on todettu olevan mikrobiologisesti vaikeammin hajotettavia kuin vastaavien alkaanien. Alkeenit ovat myrkyllisiä (Bartha & Atlas 1987).

6 H I I L I V E T Y J E N M I K R O B I O L O G I S E E N H A J O A M I S E E N V A I K U T T A V A T T E K I - J Ä T

6.1 MIKROBIT MAASSA

Maaperä on kompleksinen ympäristö, sen fysikaalis-kemialliset ominaisuudet vaihtelevat suuresti. Mikrobien lukumäärä ja lajiston monimuotoisuus on

suurimmillaan maassa. Yhdessä grammassa kuivaa viljavaa maata on keskimäärin 10^9 mikrobia. Maassa olevia mikrobeja ovat bakteerit ja aktinomykeetit l. sädesienet sekä sienet, joihin luetaan tässä kuuluvaksi myös hiivat. Viljavassa maassa bakteerien biomassa on 0.015-0.5 % ja sienten biomassa 0.05-0.5 % maan massasta (Alexander 1977).

Runsaimmin öljyn hiilivetyjä hajottavia mikrobeja on öljyisessä maassa. Öljynhajottajamikrobien aktiivisuus ja määrä kasvaa, kun maahan tulee öljyä. Toisaalta bakteerilajisto samanaikaisesti köyhtyy. Öljynhajottajabakteerien lukumäärä kasvoi eräällä öljyisellä alueella yli kymmenkertaiseksi verrattuna puhtaaseen alueeseen. Kahdeksan kuukauden kuluttua öljyn maahan joutumisesta lähes 50 % kaikista maassa olevista bakteereista oli öljynhajottajabakteereita. Yleisimpiä öljyisestä maasta eristettyjä bakteerisukuja ovat:

Pseudomonas, Arthrobacter, Alcaligenes, Corynebacterium, Flavobacterium, Achromobacter, Micrococcus, Nocardia ja Mycobacterium (Bossert & Bartha 1984).

Sienien lajidiiversiteetissä ei ole havaittu paljon merkittäviä muutoksia, kun maahan on joutunut öljyä (mm. Pinholt ym. 1979). Yleisimpiä öljyisestä maasta löytyneitä sienisukuja ovat:

Trichoderma, Penicillium, Aspergillus ja Mortierella (Bossert & Bartha 1984).

Öljyn hiilivetyjen hajoamisesta maassa vastaavat bakteerit ja sienet. On vielä epäselvää, kuinka suuri on kummankin ryhmän osuus öljyn hajotuksesta. Bakteerien hiilivetyjen hajotuskykyä pidetään yleensä tehokkaimpana. Yksityiset mikrobit pystyvät hajotamaan vain rajoitetun määrän juuri tiettyjä öljyn hiilivetyjä. Kompleksisen öljyseoksen, esimerkiksi raakaöljyn, biologiseen hajottamiseen tarvitaan bakteereja, sieniä ja hiivoja yhdessä (Bossert & Bartha 1984). Sienten on todettu voivan lisätä öljyn biologista hajotusta levittämällä sienirihmojaan öljyn sekaan. Näin öljyn pinta-tilavuus-suhde kasvaa ja bakteerien öljyn hajotus tehostuu (Davies & Westlake 1979).

Bakteerien aktiivisuus ja määrä lisääntyy nopeammin öljyisessä maassa kuin sienien (Pinholt ym. 1979). Toisaalta sienten aktiivisuus öljyisessä maassa näyttäisi kestävän pitempään kuin bakteerien (Jensen 1975).

6.2 MIKROBIT MERISSÄ

Bakteerit ovat tärkeimpiä öljynhajottajia merissä. Bakteerien lukumäärä vaihtelee paikasta ja ajasta

riippuen. Rannikkovesissä on keskimäärin 10^{11} - 10^{12} bakteeria m^3 :ssä. Jos oletetaan yhden bakteerin biomassan olevan 10^{-13} grammaa, niin yhden km^2 kokoinen ja 100 m syvä meriveden alue sisältää 1-10 tonnia bakteerimassaa (Floodgate 1984).

Atlaksen (1981) mukaan öljyä hajottavien bakteerien määrä merialueilla, joissa ei ole tapahtunut öljyonnettumuksia on hyvin pieni; alle 0.1 % kaikista heterotrofisista bakteereista on öljynhajottajabakteereita. Öljyonnettumuksissa kuitenkin öljynhajottajabakteerien osuus ja määrä kasvaa suuresti. Joskus lähes kaikki heterotrofiset bakteerit voivat olla öljynhajottajabakteereja.

Yleisimpiä öljynhajottaja bakteerisukuja ovat:

Pseudomonas, Achromobacter, Flavobacterium, Acinetobacter, Vibrio, Bacillus, Arthrobacter, Nocardia, Corynebacterium ja Micrococcus (Floodgate 1984).

Sienten ja aktinomykeettien l. sädesienten määrä on merivesissä suhteellisen pieni. Vaikka ne ovat laajalle levinneitä ja tärkeitä merivesissä, on niitä kuitenkin selvästi vähemmän kuin leviä ja alkueläimiä l. protozoaa (Floodgate 1984). Määrällisesti sieniä on kuitenkin runsaimmin rannikkoalueilla vuorovesivyöhykkeessä (Pugh 1974) ja suolarämeillä ja mangrovemetsissä (Aleem 1980). Rannikkoalueilla sienten ja hiivojen öljyn hajottamisella voi paikallisesti olla merkitystä (Floodgate 1984).

Sienilajisto muuttuu, kun ympäristöön tulee öljyä. Yleisimpiä öljyn hiilivetyjä hajottavia sienisukuja ovat:

hiivamaisista sienistä Candida, Rhodotorula ja Sporobolomyces ja muista sienistä Aureobasidium, Aspergillus ja Penicillium (Floodgate 1984).

Fototrofisten mikrolevien on joissain tapauksissa todettu pystyvän metaboloimaan myös öljyn hiilivetyjä (Walker ym. 1975, Cerniglia ym. 1980b). Walkerin ym. (1975) mukaan mikrolevä Prototheca zopfi kykeni hajottamaan raakaöljyä ja moottoriöljyä Baltimoren sataman sedimentissä yhtä tehokkaasti kuin bakteerit. Syanobakteereista naftaleenia hapettavia kantoja on löydetty seuraavista suvuista: Oscillatoria, Microleus, Anabaena, Agmenellum, Coccochloris, Nostoc ja Aphanocapsa (Cerniglia ym. 1980a).

6.3 MIKROBIT SUOLATTOMISSA VESISSÄ

Öljyn vaikutuksia on erityisesti tutkittu merissä, missä suurimmat öljyonnettomuudetkin ovat tapahtuneet. Öljyn vaikutuksia suolattomissa vesissä; erityisesti pienten vesialueiden kroonista öljykuorimitusta on tutkittu suhteellisen vähän (Cooney 1984).

Bakteerien oletetaan olevan pääasiallisia öljyn hiilivetyjen hajottajia suolattomissa vesissä (Cooney 1984). Bakteerien tarttuminen orgaanisiin ja epäorgaanisiin partikkeleihin on todennäköisesti yleisempää suolattomissa vesissä kuin merissä (Bell & Albright 1982). Partikkelit voivat konsentroida ravinteita itseensä ja toimia ikään kuin ravinnepuskurina (Mayer & Gloss 1980).

Sienten ja hiivojen öljyn hajotuskyvystä tiedetään vielä suhteellisen vähän. Sienet ovat kuitenkin Suomessa yleisiä joissa sekä meso- ja eutrofisisissa järvissä (Niemi ym. 1981). Walkerin ym. (1975) mukaan bakteerit kyllä aloittivat öljyn hajotuksen, mutta lähes kaksi kertaa enemmän öljyä hajosi, kun sienä ja hiivoja oli mukana.

6.4 ÖLJYN FYSIKAALINEN TILA JA MAAN RAKENNE

Se, miten öljy on levittäytynyt maalle tai vesistöön, miten se liikkuu siellä, sekä partikkelimaisen materian osuus vaikuttavat öljyn fysikaaliseen koostumukseen ja edelleen öljyn mikrobiologiseen hajoamiseen.

Maalla tapahtuneessa öljyvahingossa öljy kulkee lähinnä vertikaalisesti imeytyen maahan. Maahan imeytymisen vuoksi toksisten hiilivetyjen haihtuminen vähenee. Kuitenkin maan kiintoaines (partikkelimainen materia) vähentää adsorption kautta hiilivetyjen mahdollista toksisuutta. Toisaalta hiilivetyjen sitoutuminen maan humuspartikkeleihin voi saada aikaan hyvin vaikeasti hajoavia ja pitkään luonnossa säilyviä komplekseja (Bossert & Bartha 1984).

Vesistöissä öljy leviää pääasiallisesti horisontaalisesti pitkin veden pintaa. Öljyn hajoaminen öljy-vesi -emulsioksi (dispersio) lisää öljyn pinta-volyymi-suhdetta ja sen mikrobiologista hajoavuutta (Cooney 1984). Broderick & Cooney (1982) havaitsivat tutkimuksissaan, että 96 % järvistä eristetyistä hiilivetyjä hajottavista bakteereista kykenevät emulsifioimaan keroseneja. Monilla mariinisilla öljyä hajottavilla bakteereilla on emulsifikaatiokyky (Rambeloarisoa et al 1984).

Maan rakenne ja sen humuspitoisuus vaikuttavat öljyn biologiseen hajotukseen maaperän mikrobimäärän sekä -lajiston ja maaperän happitilanteen kautta. Myös öljyn ja veden viipymä maassa on seurausta maan rakenteesta. Esimerkiksi savimaassa voi huono happitilanne hidastaa öljyn hajotusta. Kuitenkin kääntämällä ja sekoittamalla savimaata voidaan huono happitilanne korjata (Anon 1980a).

6.5 ÖLJYPITOISUUS

Öljyn hiilivetyjen mikrobiologinen hajoaminen on riippuvainen öljyn konsentraatiosta ja vesiliukoisuudesta. Suuri molekyylipainosten aromaattien, kuten esimerkiksi naftaleenin ja fenantreenin mikrobiologiseen hajoamiseen vaikuttaa enemmän näiden yhdisteiden vesiliukoisuus kuin niiden pitoisuus. Lisäksi huonosti veteen liukenevien, pitkien alkaaniketjujen ($>C_{12}$) mikrobiologinen hajoaminen on suoraan verrannollinen siihen, miten paljon hiilivetyjen pintaa on vapaana mikrobien tuottamille emulsifioiville aineille, joiden avulla mikrobit pääsevät käsiksi hiilivetyyn (Thomas ym. 1986).

Öljyn mikrobiologinen hajoaminen estyy, jos järveen tai mereen on valunut liian suuri määrä öljyä. Tällöin veden pinnalle muodostuu paksu hapeton, ravinteeton ja myrkyllisiä haihtuvia hiilivetyjä sisältävä tiivis "matto" (Fusey & Oudot 1984).

Mikrobitoiminta maalla voi myös estyä tai hidastua, jos öljyä on liian suuri määrä. Dibblen & Barthan (1979) mukaan öljylietteen öljypitoisuuden ollessa 1.25-5 % mikrobitoiminta oli kiivaimmillaan. Kun lietteen öljypitoisuutta nostettiin 12 %:iin maan kuiva-ainepainoa kohti, öljyn mikrobiologinen hajoaminen hidastui. Brownin ym. (1983) mukaan öljylietteen koostumus vaikuttaa siihen, paljonko öljypitoisuus voi olla, jotta öljyn hajotus olisi tehokkainta.

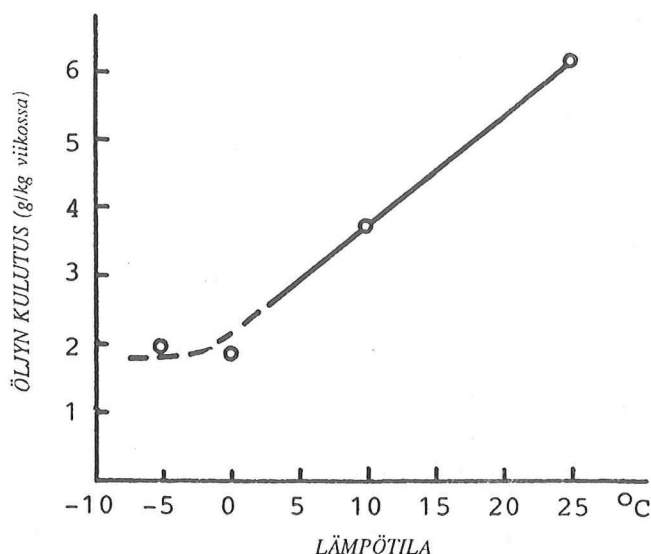
Öljylietteen eri hiilivety-yhdisteiden mikrobiologiseen hajoamiseen vaikuttaa öljylietteen öljypitoisuus sekä lietteen annostelumäärät. Suurilla öljylietteen annostelumäärillä, jolloin lietteen suuren öljypitoisuuden vuoksi öljyn mikrobiologinen hajoaminen kokonaisuudessaan hidastuu, aromaattien ja asfalteenien hajotus kiihtyy. Näiden vaikeasti hajotettavien hiilivetyjen ko-oksidaativiseen hajottamiseen mikrobit tarvitsevat kasvuunsa helpommin hajotettavia muita hiilivetyjä (Dibble & Bartha 1979). Brown ym. (1983) totesivat tutkimuksessaan, että pienillä öljylietteen annostelumäärillä mikrobipopulaatio pysyi koko tutkimusajan aktiivisessa hyvässä "hajotusvauhdissa", jolloin öljylietteiden biologinen hajotus oli nopeinta. Öljyn hiilivetyjen toksiset vaikutukset voivat myös jäädä pienemmiksi, kun öljylietettä annostellaan pienemmissä erissä (Dibble & Bartha 1979).

Joidenkin hiilivety-yhdisteiden pitoisuuden ollessa liian alhainen voi mikrobien entsyymi-induktio jäädä laukaisematta. Tällöin nämä yhdisteet voivat jäädä hajottamatta (Brown 1987).

6.6 LÄMPÖTILA

Lämpötila vaikuttaa öljyn mikrobiologiseen hajoamiseen vaikuttamalla öljyn fysikaaliseen tilaan, kemialliseen koostumukseen, öljynhajottajamikrobien aineenvaihduntaan sekä mikrobipopulaatioiden koostumukseen (Atlas 1981).

Lämpötilan noustessa mikrobien entsyymiaktiivisuus ja sen mukana öljyn mikrobiologinen hajotus kiihtyy (kuva 6) (Niemelä 1985). Biologisen öljyn hajotuksen on todettu olevan tehokkaimmillaan 18 - 30 °C:ssa (Dibble & Bartha 1979, Brown & Donnelly 1983, Niemelä 1985, Sandvik ym. 1986). Yli 30 °C:n lämpötilat ovat monille mikrobeille liian korkeita, sillä oletettavasti joidenkin hiilivetyjen mikrobien membraanitoksisuus lisääntyy korkeissa lämpötiloissa (Bossert & Bartha 1984).



Kuva 6. Lämpötilan vaikutus öljyn mikrobiologiseen hajotukseen (Niemelä 1985).

Toisaalta öljyisen maan ja jätteen kompostoinnissa voi lämpötila nousta ainakin prosessin alkuvaiheessa jopa 60 °C:een. Tällä ei ole kuitenkaan havaittu olevan suurta mikrobien hiilivetyjen hajotusta inhiboivaa vaikutusta. Kompostointi on kokonaisuudessaan onnistunut hyvin (Halmö 1985, Martikainen 1989).

Hiilivetyjä hajottavat erilaiset mikrobipopulaatiot ovat sopeutuneet ympäröivään ilmastoon. Colwell ym. (1978) havaitsivat Metula-raakaöljyn hajoavan mikrobiologisesti meressä tehokkaasti 3 °C:ssa. Huddleston & Cresswell (1976) puolestaan totesivat öljyn mikrobiologista hajotusta tapahtuvan maassa jopa -1.1 °C:ssa, kunhan maa vain ei ollut jäässä.

Hyvin alhaisissa lämpötiloissa mikrobien on todettu olevan joko täysin kykenemättömiä hajottamaan tai hajottavan vain vähän pitkiä hiilivetyketjuja sekä syklisiä hiilivetyjä ja aromaatteja (Westlake ym. 1974). Arktisella Jäämerellä (Atlas ym. 1978) ja jäätyneellä tundralla (Atlas ym. 1976) öljyn mikrobiologinen hajotus on olematonta. Kanadassa subarktisella alueella öljy säilyi maassa yli vuosikymmenen (Sparrow & Sparrow 1989).

Vuodenajat vaikuttavat myös öljyn mikrobiologiseen hajoamiseen. Niemelän (1985) mukaan öljyn biologinen hajoaminen on Suomen lämpötila- ja kosteusolosuhteissa rajoittunut suunnilleen kasvukauteen ja on täysin pysähdyksissä talvella. Talven alhaisten lämpötilojen on todettu rajoittavan öljyn mikrobiologista hajoamista järvissä (Cooney ym. 1985) ja mm. polyaromaattisten hiilivetyjen hajoamista jokisuistojen sedimenteissä (Shiaris 1989).

Öljyn mikrobiologinen hajoaminen vähenee lämpötilan laskiessa. Alhaisessa lämpötilassa öljyn viskositeetti kasvaa, toksisten lyhytketjuisten hiilivetyjen haihtuminen vähenee ja niiden liukenevuus veteen lisääntyy, joka hidastaa mikrobiologisen hajotuksen alkamista (Atlas 1981).

Auringon säteilyn vaikutuksesta tapahtuu öljyn hiilivetyjen foto-oksideatiota (Floodgate 1984). Vesiekosysteemeissä foto-oksideatiolla voi olla hyvinkin suuri merkitys öljyn hajoamisessa (Zepp ym. 1981).

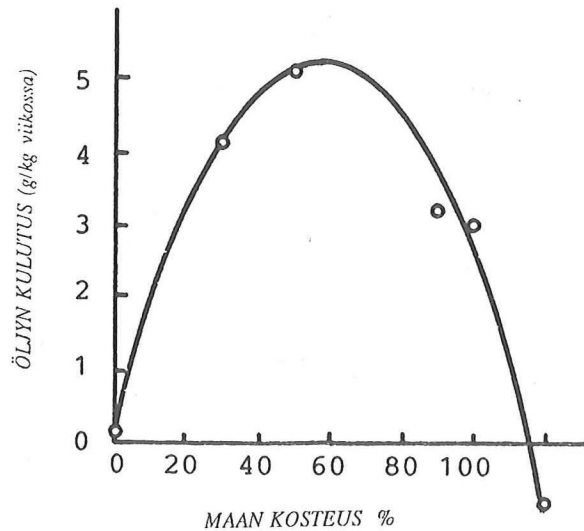
6.7 HAPPI JA MAAN KOSTEUS

Happi on ehdottoman tärkeä öljyn biologisessa hajoamisessa, koska merkittävin osa öljyn hiilivetyjen hapettamisesta tapahtuu oksygenaasientsyymien avulla. Hapettomissa olosuhteissa öljyn mikrobiologinen hajoaminen pysähtyy tai joissain harvoissa tilanteissa jatkuu hyvin hitaasti nitraatin tai sulfaatin pelkistyksellä (Bartha 1986).

Merien ja järvien ylemmissä vesikerroksissa happi on harvoin mikrobiologista öljyn hajotusta rajoittava tekijä. Jos öljy joutuu sedimenttiin, jossa vain ylin pintakerros on tavallisesti hapellinen, voi tilanne muuttua. Sekoittuessaan anaerobiseen sedimenttiin öljy saattaa säilyä pohjassa vuosikausia (Cooney ym. 1985, Hambrick ym. 1980). Erityisesti suojaisilla hienoilla hiesu- ja mutarannoilla öljyn hiilivetyjen biologista hajoamista rajoittavana tekijänä on usein happi (Floodgate 1984).

Maaperässä hapen määrään vaikuttaa mikrobien hapen kulutus, maaperän rakenne ja laatu, maaperän vesipitoisuus sekä käytettävissä olevan öljyn määrä,

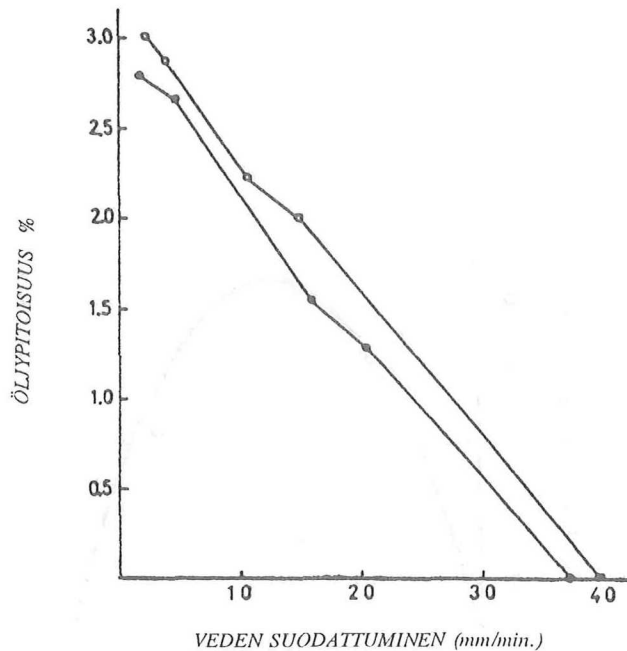
jonka biologinen hajottaminen kuluttaa happea (Bossert & Bartha 1984).



Kuva 7. Maan suhteellisen kosteuden vaikutus öljyn mikrobiologiseen hajotukseen. Kosteus prosentteina maan kenttäkapasiteetista (Niemelä 1985).

Hapen läsnäoloon maassa liittyy saumattomasti maan kosteus. Liian kosteassa maassa maahuokokset täyttyvät vedellä ja maa muuttuu hapettomaksi. Mikrobin aineenvaihdunnan kannalta suotuisana maan kosteutena pidetään maan 50-60 %:n vedenpidätyskykyä (kuva 7) (Niemelä 1985).

Öljiisessä maassa vielä 20 %:n vedenpidätyskyky näyttäisi olevan suotuisa mikrobeille. Oletettavasti hydrofobiset (ei vesiliukoiset) hiilivedyt vähentävät maan vedenpidätyskykyä, ja näin ollen mikrobin saatavilla on enemmän vettä kuin vastaavissa öljyttömissä olosuhteissa (Dibble & Bartha 1979). Brownin ja Donnellyn (1983) öljylietteen hajotuskokeissa öljyn biologinen hajoaminen oli suurimmillaan maan kosteuden ollessa 18 % maan kenttäkapasiteetista. Sandvikin ym. (1986) mukaan maan öljypitoisuuden lisääntyessä veden sitoutuminen maahan vähenee ja vesi valuu nopeammin maakerroksen läpi (kuva 8). Näin ollen kesällä vesi voi rajoittaa mikrobiologista öljyn hajotusta.



Kuva 8. Maan öljypitoisuuden (%) vaikutus veden suodattumiseen maakerrosten läpi (Sandvik ym. 1986).

6.8 RAVINTEET

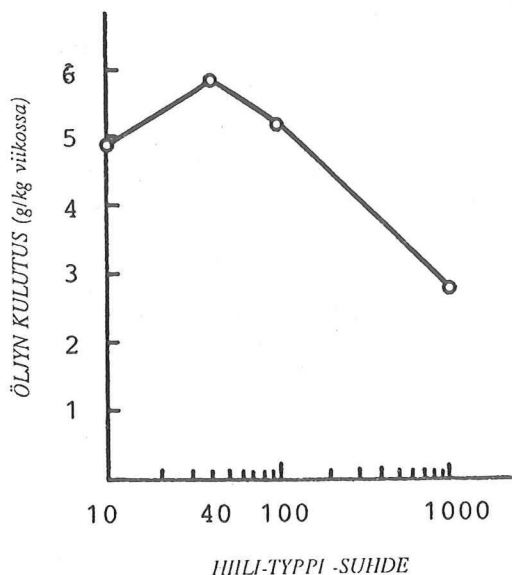
Koska öljy koostuu pääasiassa hiilestä ja vedystä, sen lisääminen maaperään tai vesistöön järkyttää vallitsevaa hiili-typin -tasapainoa. Tyyppistä voi tulla öljyn mikrobiologista hajotusta rajoittava tekijä. Yleisesti typen ja fosforin määrän vähäisyyden maalla ja vedessä on todettu rajoittavan hiilivetyjen kasvua. Tavallisesti mikrobeille optimaalisena hiili-typin -suhteena (C:N) pidetään noin 10:1 (Jobson ym. 1974).

Makroravinteiden; typen ja fosforin lisäys maaperään lisää öljyn mikrobiologista hajoamista (Bartha 1986). Lannoitteiden vaikutusnopeus ja tehokkuus riippuu saastuneen maan ravinnetasosta. Maaperän monimuotoisuuden vuoksi toisilla alueilla fosfori ja typin lisäävät öljyn biologista hajotusta välittömästi toisilla alueilla vasta pitemmän viiveen kuluttua lannoitteen lisäyksestä (Bossert & Bartha 1984). Joissain tapauksissa on todettu mineraaliravinteiden lisäävän helposti hajoavien hiilivetyjen esimerkiksi n-parafiinien biologista hajotusta aromaattien kustannuksella (Fedorak & Westlake 1981).

Dibblen & Barthan (1979) tutkimuksissa öljylietteen biologinen hajoaminen oli tehokkainta, kun hiili-typin-fosfori -suhde oli 800:60:1. Brownin ym. (1983) mukaan lannoitetun jalostamolietteiden biologinen

hajotus oli jopa 30 % suurempi kuin lannoittamattoman. Jalostamolietteessä öljyn mikrobiologinen hajotus oli tehokkainta, kun hiili-typpeä -suhde pienennettiin 9:1 (alunperin C:N oli 78:1). Sen sijaan petrokemiallisen lietteen biologiseen hajoamiseen ravinteiden lisäys ei vaikuttanut paljonkaan. Lietteessä öljyn mikrobiologinen hajoaminen oli tehokkainta, kun siihen lisättiin pelkästään typpeä tai typpeä, fosforia ja kaliumia yhdessä niin, että C:NPK oli 124:1. Fosforin lisäyksellä ei ollut juuri vaikutuksia kummankaan öljylietteen hajoamiseen.

Suomessa tehdyssä tutkimuksessa typpilannoitteen, ammoniumnitraatin (NH_4NO_3) lisäys peltomaahan, johon oli sekoitettu dieselöljyä, lisäsi öljyn biologista hajotusta (kuva 9). Sen sijaan fosforipitoisuus oli maassa itsessään jo hyvä, joten fosforin lisäys ei lisännyt öljyn biologista hajotusta (Palva 1978).



Kuva 9. Typpilannoitteen (ammoniumnitraatti) vaikutus öljyn mikrobiologiseen hajotukseen (Niemi 1985).

Etelä-Norjassa tehdyssä tutkimuksessa noin 80 % öljylietteen öljystä hajosi vajaassa kolmessa vuodessa, kun typpeä (typpi-fosfori-kaliumseoksena) lisättiin 600 kg hehtaarille vuodessa (ks. peltokäsittely) (Sandvik ym. 1986).

Frankenbergerin (1988) mukaan lannoitettaessa öljynsekaista maata typpi täytyisi lisätä maahan mikrobeille helposti hyödynnettävässä epäorgaanisessa muodossa, kuten ammoniumnitraattina tai jopa ammoniumsulfaattina. Ureana, orgaanisessa muodossa lisätty typpi voi olla mikrobeille hyvinkin vaikeasti

saatavissa, sillä jalostettujen öljyjen sisältämien raskasmetallien on todettu inhiboivan urean pilkkoutumista (katalyyysia) maassa. Tabatai (1977) huomasi, että erityisesti kadmium (Cd^{2+}), kupari (Cu^{2+}), elohopea (Hg^{2+}) ja Argon (Ag^+) inhiboivat ureaasi-reaktiota.

Arktisilla merialueilla auringon suuren säteilyn vaikutuksesta hiilivetyjen foto-oksidaation tuloksena syntyneet tuotteet voivat myös inhiboida öljyä hajottavien bakteerien ureaasientsyymin toimintaa. Ureaasin ansiosta urea pilkkoutuu ammoniumiksi (NH_4^+), jota bakteerit voivat käyttää ravintonaan. Näin ollen ureapohjaiset lannoitteet eivät lisänneet öljyn biologista hajotusta meressä (Sveum & Ladousse 1990).

Lehtomäen & Niemelän (1975) tutkimuksissa hiivauute lisäsi öljyn biologista hajotusta. Sen sijaan Dibblen & Barthan (1979b) mukaan orgaanisella aineella, hiivauutteella, ei mineraaliravinteiden kanssa käytettynä ollut mitään vaikutusta öljyn hajoamiseen. Toisaalta on huomattava, että Lehtomäen & Niemelän (1975) tutkimuksissa ei käytetty mitään muita ravinteita, joten hiivauute on saattanut todella olla mikrobeille pääasiallinen typen- ja fosforinlähde.

Dibblen & Barthan (1979) tutkimuksessa asumajätevesiliete yhdessä mineraaliravinteiden kanssa ei myöskään lisännyt öljyn biologista hajotusta.

Merissä epäorgaanisen typen määrä vaihtelee noin 0 - 500-600 μg typpeä litrassa, joten typpi on usein mikrobien kasvua rajoittava tekijä. Lisäksi jos mereen joutuu öljyä on typen määrä lähes aina riittämätön öljyn biologisen hajoamisen kannalta. Fosfori on myös usein mikrobien kasvua rajoittava tekijä meressä (Floodgate 1984).

Myös suolattomissa vesissä; järvissä, lammissa ja joissa ravinteet tavallisesti rajoittavat öljyn biologista hajotusta. Ravinteiden määrään vedessä vaikuttavat itse vesistötyypin lisäksi vuodenaikojen vaihtelut tulvineen sekä epätavallisen kuivat tai sateiset kaudet (Cooney 1984). Amerikassa, Ohion osavaltiossa tutkituilla järvillä öljyn hiilivetyjen biologinen hajotus lisääntyi, kun järviä lannoitettiin typellä (0.41 mM KNO_3). Kaikkein tehokkainta biologinen hajotus oli silloin, kun järviä lannoitettiin sekä typellä (0.41 mM KNO_3) että fosforilla (0.15 mM KH_2PO_4). Mielenkiintoista oli myös huomata, että tavallisesti hyvin vaikeasti hajoavina pidetyt naftaleenit, hajosivat kaikkia muita hiilivetyjä nopeammin (Cooney ym. 1985).

Erityisesti typpeä ja fosforia sisältäviä oleofiilisiä ravinteita kuten parafinoitua ureaa on kehitetty estämään ravinteiden huuhtoutumista veteen öljylautoilta (Atlas & Bartha 1973) ja magnesiumammoniumfosfaatti (MgNH_4PO_4) (Olivier ym.

1976). Oleofiilisten ravinteiden ansiosta öljyn hajotuksen todettiin kiihtyvän huomattavasti.

Kuten aikaisemmin on jo käynnyt ilmi, Norjassa Huippuvuorilla ureapohjaisen oleofiilisen INIPOL EAP22-lannoitteen ei todettu auringon suuren säteilymäärän vuoksi lisäävän öljyn mikrobiologista hajotusta meressä (Sveum & Ladousse 1990).

Sen sijaan öljyyntyneillä vuorovesirannoilla oleofiilisen INIPOL EAP22-lannoitteen todettiin lisäävän öljyn mikrobiologista hajotusta. Arktisen kesän aikana karkearakenteisella hiekka-sora rannalla öljyn mikrobiologinen hajoaminen lisääntyi jopa 90 %. Hiesurannoilla oleofiilisen lannoitteen öljyn hajotusta stimuloiva vaikutus jäi sen sijaan pieneksi. Lannoitteet eivät todennäköisesti tunkeutuneet syvälle hienorakenteisen rannan sedimenttiin, vaan jäivät suurelta osin pinnalle (Sveum & Ladousse 1990).

Vastaavasti Kanadassa Atlantin vuorovesirannikolla INIPOL EA22 ei lisännyt öljyn biologista hajotusta, sillä mikrobit käyttivät öljyn sijasta ravinnokseen INIPOL EA22:n sisältämiä aineita, kuten öljyhappoa. Epäorgaanisten lannoitteiden; typen, fosforin ja kaliumin (N:P:K 10:1:10) lisäys sen sijaan stimuloi suuresti öljyn hajotusta. Maataloudessa käytettävien ammoniumnitraatin ja superfosfaatin käyttöä lisää niiden helppo saatavuus, halpa hinta ja se, että niitä voidaan levittää alhaisissa lämpötiloissa maatalouslaitteilla (Lee & Levy 1990).

Alhainen rautapitoisuus saattaa joissain tapauksissa myös rajoittaa biologista öljyn hajotusta järvissä (Cooney 1984). Dibblen ja Barthan (1976) mukaan puhtaan meriveden alhainen rautapitoisuus (1.2 mM) rajoitti biologista öljyn hajotusta. Sen sijaan raudan lisääminen saastuneeseen meriveteen (rautapitoisuus 5.2 mM) ei lisännyt öljyn hajotusta.

6.9 pH

Maaperässä pH voi vaihdella suuresti. Suurimmalle osalle heterotrofisia bakteereita ja sieniä optimaalinen pH on lähellä neutraalia. Maan sädesienet ja bakteerit ovat tällöin aktiivisia. Sienet sietävät yleensä bakteereja paremmin happamia olosuhteita (Anon 1980a).

Öljylietteen biologinen hajotus oli tehokkainta lietteen pH:n ollessa 7.8 (Dibble & Bartha 1979). Verstraeten ym. (1975) mukaan polttoöljyn biologinen hajotus lähes kaksinkertaistui, kun happaman (pH 4.5) maan pH nostettiin pH 7.8. Liian emäksisessä (pH 8.5) maassa öljyn biologinen hajotus vähenee.

Orgaanisen aineen biologinen hajotus myös muuttaa

maaperän pH:ta. Sekä happamassa että emäksisessä maassa pH lähenee lopulta neutraalia (pH 6.5 - 7.5) (Anon 1980a).

Sedimenteissä pH voi olla hyvinkin hapan. Oktadekaanin ja naftaleenin biologinen hajotus oli vähäisempää pH 5:ssä kuin pH 6.5:ssä. Lisäksi toisin kuin naftaleenin, niin oktadekaanin biologinen hajotus lisääntyi pH:n noustessa 8:aan (Hambrick ym. 1980).

Suolattomissa vesissä pH voi vaihdella suuresti. Viimeaikoina paljon puhutun happamoitumisen myötä vesistöjen lajisuhteet muuttuvat niin, että voitaisiin olettaa sienten olevan lopulta öljyn tärkeimpiä hajottajia happamissa vesistöissä (Foght & Westlake 1987),

6.10 SALINITEETTI JA PAINE

Suolapitoisuuden ja paineen vaikutuksia öljyn biologiseen hajoamiseen on tutkittu hyvin vähän. Shiarin (1989) tutkimuksissa jokisuiston sedimentissä fenantreenin ja naftaleenin mikrobiologinen hajoaminen korreloi positiivisesti suolapitoisuuden kanssa. Lisäksi Kerrin ja Caponen (1988) mukaan Hudson joen yläjuoksulla, missä suolapitoisuus oli alhainen, naftaleenin biologinen hajoaminen oli hitaampaa kuin suolaisemmassa jokisuiston sedimentissä. Toisaalta hypersalinisessa ympäristössä öljyn biologisen hajoamisen on todettu vähenevän (Ward & Brock 1978).

Paineen merkitys öljyn mikrobiologisessa hajoamisessa rajoittuu lähes yksinomaan syvänmeren sedimentteihin, missä erityisesti happi on öljyn biologista hajotusta rajoittava tekijä. Suuren paineen on todettu hidastavan öljyn mikrobiologista hajotusta (Schwarz ym. 1975).

6.11 ÖLJYKOMPONENTTIEN HAJOAVUUS

Eri öljylaatujen mikrobiologinen hajoaminen tapahtuu eri nopeudella (Taulukko 1). Kompleksisen öljyseoksen eri hiilivetyjen koostumus ja määrä vaikuttaa öljyn mikrobiologiseen hajoamiseen. Esimerkiksi keroseenin, joka koostuu lähes yksinomaan keskipitkistä alkaaniketjuista, mikrobiologinen hajoaminen voi edullisissa olosuhteissa olla lähes täydellistä. Raakaöljyn mikrobiologinen hajoaminen ei koskaan ole täydellistä ja asfalteenia ja nafteenia sisältävän raakaöljyn on todettu hajoavan hyvin hitaasti (Bartha 1986).

Taulukko 1. Eri öljylaatujen hajoaminen maaperässä
Törrösen (1989) laatiman kirjallisuusselvityksen mukaan.

Öljy	Hajoamisnopeus (gHV/kg maata päivässä)	Lannoitus
Raakaöljy	1.38	+
Öljyliete	0.37	+
Öljyliete	0.18	-
Jäteöljy	0.60	+
Kaasuöljy	0.02	-
Raskas polttoöljy	0.11	-
Polttoöljy	0.05	+
Öljysekoite	0.09 (max)	+
Raakaöljy	0.08 (max)	+
Raakaöljy	0.02 (min)	-

gHV = grammaa hiilivetyjä

Hiilivetyjen mikrobiologisen hajotettavuuden on yleensä todettu vähenevän seuraavassa järjestyksessä: n-alkaanit > haaraketjuiset alkaanit > aromaattit, joilla on alhainen molekyylipaino > sykloalkaanit (Perry 1984).

Suoraketjuiset, haarautumattomat ja 10 - 22 hiiliatomia sisältävät alkaanit ovat kaikkein helpoimmin mikrobiologisesti hajoavia. Vaikka yli 22 hiiliatomia sisältävät hiilivedyt ovat tavallisesti jo kiinteinä vahoina, on todettu jopa 44 hiiliatomia sisältävien pitkien alifaattisten hiilivetyjen hajoavan mikrobiologisesti. Haaraketjuisten alkaanien metyyli-ryhmät rajoittavat niiden - oksidaatiota ja näin ollen vaikeuttavat mikrobiologista hajoamista (Atlas 1981).

Muutamit erikoistuneet lajit pystyvät hajottamaan kaasumaisia (C1 - C4) alkaaneja. Vain todella harvat lajit pystyvät hajottamaan toksisia 5 - 6 hiiliatomia sisältäviä alkaaneja. Kaasumaisten alkaanien haihtuminen on yleisempää kuin mikrobiologinen hajoaminen (Bartha & Atlas 1987).

Monet mikrobit voivat hajottaa monoaromaatteja pieninä pitoisuuksina. Sen sijaan sykloalkaanien kuten sykloheksaanin ja dekaliinin mikrobiologinen hajotus on hyvin pientä johtuen niiden suuresta toksisuudesta (Bartha & Atlas 1987).

Heterogeenisten NSO -yhdisteiden mikrobiologisesta hajoamisesta ei tiedetä kovinkaan paljon. Resiinien ja asfalteenien mikrobiologinen hajotus on kuitenkin hyvin pientä, jos sitä yleensä tapahtuu (Bartha & Atlas 1987).

Poikkeuksia edellä mainittuun hiilivetyjen hajoamisjärjestykseen on kuitenkin monia. Cooney ym. (1985) havaitsivat tutkimuksissaan, että naftaleeni hajosi järvien sedimentissä nopeammin kuin heksadekaani. Myös Jonesin ym. (1983) mukaan mikrobit hajottivat merisedimentissä alkyyliaromaatteja paljon nopeammin kuin testatun raakaöljyn n-alkaaneja. Lisäksi Fedorak & Westlake (1981) havaitsivat tutkimuksessaan, että mikrobit merisedimentissä alkoivat nopeammin hajottaa aromaatteja kuin muita testatun raakaöljyn hiilivetyjä.

Rontani ym. (1985) totesivat asfalteeniyhdisteiden mikrobiologisen hajoamisen olevan riippuvainen 12-18 hiiliatomia sisältävien n-alkaanien läsnäolosta. Näin siis mikrobit voivat kasvuunsa käyttämänsä n-alkaanien lisäksi hajottaa asfalteeniyhdisteitä koksidiivisesti.

7 Ö L J Y O N N E T T O M U U D E T M E R E L L Ä

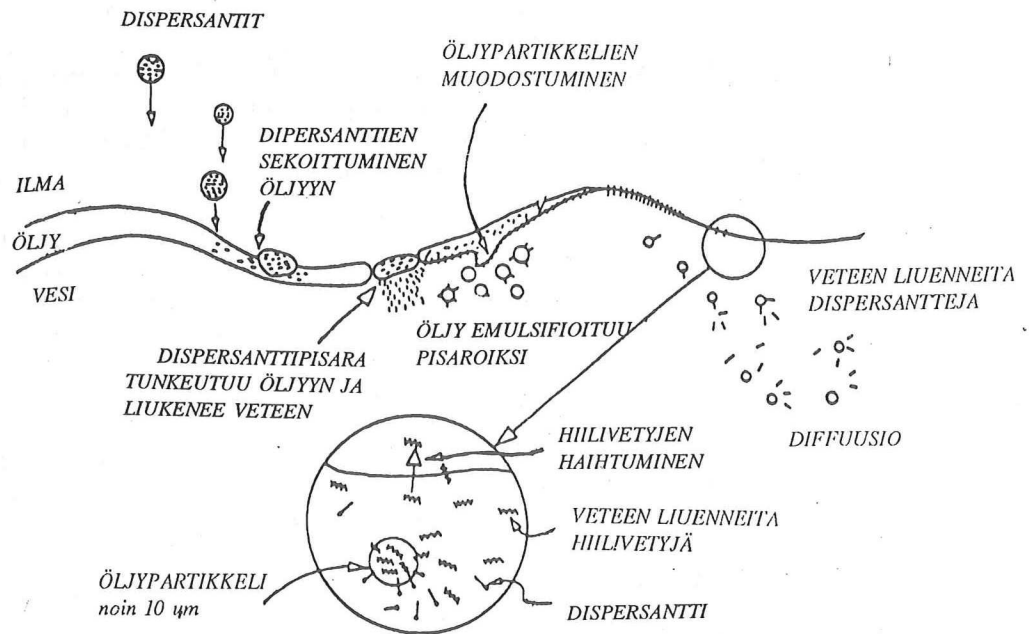
Merkittävä osa maailman öljystä kuljetetaan merillä, missä myös suurimmat öljyonnettomuudet ovat tapahtuneet. Tästä syystä suurin osa öljyn seuranta- ja vaikutustutkimuksia koskee pääasiassa meriekosysteemiä. Tässä kappaleessa esitetyjä asioita voidaan kuitenkin myös osin soveltaa suolattomiin vesiin.

Mereen valunut öljy leviää toisin kuin maalla pääasiassa horisontaalisesti, pinnan myötäisesti. Yleistäen voidaan sanoa, että 1 kg öljyä levittäytyy 1-10 m² suuruiselle alueelle (Berridge ym. 1968). Meressä osa öljystä rapautuu liukenemalla, laimenemalla, haihtumalla, fotokemillisesti hapettumalla, emulsifioitumalla ja mikrobiologisesti hajoamalla. Osa öljystä muodostaa rapautumisen seurauksena paksua viskoosista massaa, joka painuu pohjaan tai ajelehtii aaltojen mukana rannoille (Cooney 1984). Päinvastoin kuin maalla suuri osa öljystä häviää merestä haihtumalla ja fotooksideation avulla. On arvioitu, että kevyestä ja keskiraskaasta raakaöljystä 25-35 % voi hävitä haihtumalla ja foto-oksideatiivisesti ensimmäisen parin päivän aikana vahingon tapahtumisesta (Gundlach et al 1983). Erityisesti arktisilla merialueilla auringon suuresta säteilymäärästä johtuen hiilivetyjen foto-oksideatio on merkittävää (Sveum & Ladousse 1990).

Jos öljyvahinko tapahtuu rannikolla tai öljylautta ajautuu rannikolle voivat vahingot litoraalin usein herkälle ekosysteemille olla suuret. Tuulille alttiilla kivikkorannoilla öljy saattaa hävitä kallioilta muutamassa päivässä aaltojen vaikutuksesta. Sen sijaan suojaisilla hiekkarannoilla sekä orgaanisilla muta-, liejuranhoilla öljy tunkeutuu syvälle maahan (Baker ym. 1990). Jos aallot sekoittavat öljyn hapettomaan sedimenttiin, voi se

säilyä sedimentissä vuosikausia (Gundlach ym. 1983, Ward ym.1980).

Erilaisten mekaanisten öljyn torjuntakeinojen lisäksi on mereen levitetty öljyn emulsifikaatiota lisääviä kemiallisia dispersantteja. Aikaisemmat käytetyt dispersantit olivat mikrobeille usein jopa itse öljyä myrkyllisempiä. Sen sijaan viime aikoina on markkinoille tullut myös myrkyttömiä öljyä emulsifioivia aineita, kuten merellisissä öljyvahingoissa käytettävä Corexit 9527. Emulsifioivien aineiden ansiosta öljyn pinta:volyymin suhde suurenee, ja öljyn mikrobiologinen hajotus lisääntyy (kuva 10) (Lee ym. 1985, Foght & Westlake 1987).



Kuva 10. Öljyn dispersio (Lehtinen 1987).

Dispersantit täytyisi levittää muutaman tunnin sisällä öljyvahingon tapahtumisesta. Öljyn muuttuminen hyvin viskoosiseksi massaksi rapautumisen seurauksena rajoittaa dispersanttien käyttöä (McIntosh 1989).

Öljyn mikrobiologista hajotusta on yritetty lisätä vaihtelevin menestyksin kylvämällä öljyä hajottavia bakteereja öljylautoille. Bakteeriympit ovat tavallisesti olleet sekaviljelmia. Öljyn mikrobiologinen hajotus ei kuitenkaan ole monissakaan tapauksissa lisääntynyt (esim. Tagger ym. 1983). Mikrobiympit ovat tavallisesti hävinneet vallitsevasta mikrobifloorasta. Lisäksi erityisesti ravinteet ovat olleet öljyn mikrobiologista hajotusta rajoittavana tekijänä (Bartha 1986).

Öljyn mikrobiologinen hajoaminen sen sijaan on lisääntynyt, kun öljyiseen mereen on mikrobiymppien kylvämisen lisäksi lisätty myös ravinteita; erityisesti typpeä ja fosforia (Brown 1987).

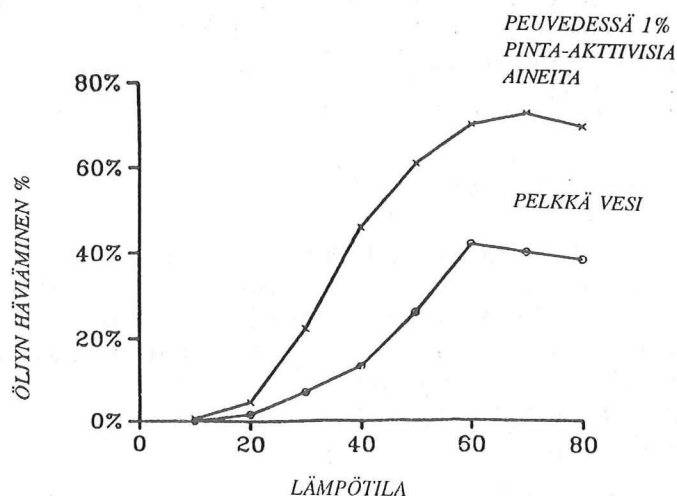
Oleofiilisten lannoitteiden on todettu lisäävän mikrobiologista öljynhajotusta merissä, arktisilla merialueilla ja järvissä. Typpeä ja fosforia on lisätty parafinoituna ureana ja erilaisina fosfaatteina vesiin (Leahy & Colwell 1990). Toisaalta oleofiilisten lannoitteiden heikkoutena on monissa tapauksissa ollut se, että mikrobit ovat merellä lainehtivan hajotettavan öljyn sijaan käyttäneet ravinnokseen myös lannoitteiden pohjana olevaa öljykomponenttia (Anon 1981).

Laboratorioissa on viimeaikoina kehitetty geenimanipuloituja bakteerikantoja, jotka pystyvät tehokkaasti hajottamaan erilaisia öljyn hiilivetyjä. Toistaiseksi geenimanipuloituja kantoja ei ole pystytty testaamaan luonnossa, sillä niiden levitys luontoon on kielletty (Leahy & Colwell 1990).

Bakteerien itsensä tuottamia öljyä emulsifioivia myrkyttömiä aineita on myös kokeiltu öljyn hajotuksessa. Tankkerien pilssivesien puhdistamiseksi Gutnick ja Rosenberg (1977) käyttivät hyväkseen mikrobien emulsifikaatiokykyä. Tyhjiin öljysäiliöihin lisättiin mikrobien ravinnoksi ureaa ja kaliumvetyfosfaattia, kun laivan lasti oli purettu satamassa. Säiliöitä ilmastettiin aika ajoin. Kun pilssivesi muutaman päivän kuluttua pumpattiin ulos säiliöistä uuden öljylastin lisäämistä varten, huomattiin kaiken öljylietteen hävinneen. Mikrobit olivat emulsifioineet (bioemulsifikaatio) öljylietteen säiliöistä.

Alaskassa Exxon Valdez-tankkerionnettomuuden yhteydessä tutkittiin Pseudomonas aeruginosan tuottamien pinta-aktiivisten aineiden (glykolipidit) tehokkuutta öljyisen hiekka-soran puhdistuksessa laboratoriossa. Öljyisen soran puhdistuminen tehostui ja nopeutui, kun sitä huuhdeltiin 1 %:lla emulsifioivia aineita sisältävällä pesuvedellä. Öljyn huuhdoutuminen sorasta oli tehokkainta, kun pesuveden lämpötila oli yli 30 °C (kuva 11) (Harvey ym. 1990).

Tavanomainen öljyntorjuntakeino suurissa onnettomuuksissa on mekaaninen keruu. Öljy imeytetään usein johonkin aineeseen esim. turpeeseen ja nostetaan ylös vedestä. Torjuntakeino muuttuu mikrobiologiseksi öljyn hävitysmenetelmäksi silloin, kun kerätty öljyliete kompostoidaan maalla. Toistaiseksi tämä on vielä ainoa toimiva mikrobiologinen öljynhajotusmenetelmä. Muut menetelmät; mikrobiymppien ja lannoitteiden levitysmenetelmät ovat vielä kehitteillä. Öljyisen jätteen kompostoinnista kerrotaan lisää sivulla 52.



Kuva 11. *Pseudomonas aeruginosan* tuottamien pinta-aktiivisten aineiden vaikutus öljyn huuhtoutumiseen sorasta (Harvey ym. 1990).

8 ÖLJYONNETTOMUUDET MAALLA

Maalla tapahtuneesta öljyvahingosta vain 1-2 % öljystä häviää haihtumisen ja foto-oksidation avulla, suurin osa imeytyy suoraan maahan (McGill ym. 1981). Öljyn imeytymiseen maahan vaikuttaa sekä öljyn viskoosisuus että maan laatu ja rakenne. Polttoaineet ja keroseni imeytyvät heti huokoiseen maahan, sen sijaan raskas voiteluöljy hyvin hitaasti tai ei ollenkaan. Jos öljy pääsee syvälle hapettomaan maahan, saattaa se säilyä maassa vuosikymmeniä. Jos öljy pääsee pohjaveteen voivat vaikutukset olla tuhoisat.

Maaperää voidaan toisaalta pitää suhteellisen suotuisana ympäristönä öljyn mikrobiologiselle hajoamiselle. Maaperän mikrobibiomassa ja -diversiteetti on suuri, ja maassa on yleisesti jo paljon hiilivetyjä hajottavia bakteereja ja sieniä. Mineraaliravinteita on maaperässä enemmän kuin esim. merivedessä, lisäksi maan savipartikkelien ja orgaanisen aineen, humuksen, suuri adsorptio- ja absorptiokyky vähentää öljy-yhdisteiden toksisia vaikutuksia. Öljyn hiilivetyjen toksisten vaikutusten oletetaan vähenevän, jos öljyn biologinen hajotus on suurta. Vaikka hiilivetyjen osittainen hajoaminen voi tuottaa itse hiilivetyjä haitallisempia oksidaatiotuotteita ympäristöön, niin toksisia yhdisteitä haihtuu myös paljon ilmaan tai ne muuttuvat haitattomaan muotoon sitoutuen maapartikkeleihin (Bossert & Bartha 1984).

Mikrobiologisin keinoin voidaan öljyonnettomuuksissa saastuneita maa-alueita ja öljyisiä jätteitä

puhdistaa pääpiirteittäin kahdella tavalla: itse paikan päällä (in situ -menetelmä) tai kuljettamalla saastunut maa-aines sille varatulle paikalle kompostoitavaksi tai öljypellolle (on site -menetelmä).

8.1 IN SITU -MENETELMÄT

In situ -menetelmässä saastunut maa pyritään puhdistamaan paikan päällä tehostamalla öljyn mikrobiologista hajoamisprosessia. Maan mikrobitoiminnalle luodaan mahdollisimman suotuisat olosuhteet; maahan lisätään ravinteita, sitä ilmastetaan ja sinne lisätään tarvittaessa mikrobiymppejä.

Mikrobiologisia in situ -menetelmiä on vielä toistaiseksi käytetty suhteellisen rajoitetusti ja menetelmä on vielä kehitteillä. Pääasiassa menetelmää on käytetty sellaisten alueiden puhdistukseen, missä saastuneen maan kaivaminen maasta on ollut teknisesti mahdotonta tai liian kallista. Tällöin saastunut kohde on ollut usein joko hyvin syvällä maassa tai rakennusten alla (Soczo & Staps 1988).

Jeltschin (1990) tekemän kirjallisuusselvityksen mukaan in situ -kunnostusmenetelmät ovat hyvin tapauskohtaisia ja ne vaativat laajan esitutkimuksen. Ennen kunnostusta on selvitettävä:

- saasteiden laatu, niiden pitoisuus ja jakauma maassa
- saasteiden ja kunnostuksessa käytettyjen aineiden ja toimenpiteiden fysikaaliset, kemialliset ja biologiset ympäristövaikutukset
- virheellisen toiminnan, prosessivaikeuksien, sivuvaikutusten ym. vaikutus kunnostukseen
- pohjaveden ja ympäristön pilaantumisen mahdollisuus.

In situ -menetelmissä suurimpana riskitekijänä ympäristön kannalta pidetään pohjavesien mahdollista saastumista. Menetelmän soveltamista rajoittavat maaperän alhainen vedenläpäisevyys ja epähomogeenisuus. Epähomogeenisuuden vuoksi käsittely ei ole täydellistä. Huuhtelujärjestelmän ratkaiseminen ja käsittelyliuoksen jakelu maa-aineksessa ovatkin usein kunnostuksen vaikeimpia ongelmia (Ghassemi 1988). Kunnostus onnistuu myös parhaiten, jos maaperän hydraulinen johtavuus on pienempi kuin 0.5×10^{-4} m/s (Werner 1989).

Riippuen saastuneen kohteen syvyydestä in situ -menetelmät voidaan jakaa kahteen osaan: maan pintakerroksessa ja syvällä maassa olevan saastuneen maan käsittely.

8.1.1 Öljy maan pintakerroksessa

Pintakerroksessa sijaitsevien saasteiden käsittelyssä sovelletaan yksinkertaisia in situ -kunnostusmenetelmiä. Tarpeelliset ravinteet ja mikrobiympit levitetään maan pinnalle tai sekoitetaan koneellisesti maan pintakerrokseen. Menetelmät soveltuvat vain hyvin läpäiseviin maalajeihin. Saavutetut puhdistustulokset ovat kuitenkin menetelmien yksinkertaisuuden vuoksi on site -menetelmiin verrattuna heikompia. Esimerkiksi on site -menetelmien yhteydessä esitetty peltokäsittely on ympäristönsuojelullisesti katsottuna luotettavampi menetelmä; siinä suotovesien aiheuttama pohjavesien saastuminen on eliminoitu (Jeltsch 1990).

Jeltschin (1990) tekemän kirjallisuusselvityksen mukaan BIODETOX^R-menetelmät perustuvat kuivattujen mikrobien levitykseen saastuneeseen maahan. BIODETOX^R-vaahtomenetelmässä kunnostettavaan maa-alueeseen ruiskutetaan mikrobeja, pinta-aktiivisia aineita, ravinteita ja vettä sisältävää vaahtoa, joka muodostaa maahiukkasiin osuessaan pieniä mikrobeja sisältäviä aerosolipisaroita. Vaahtomenetelmää tehokkaampi on BIODETOXR-tilling-menetelmä, jossa maaperää aurataan tai jyrsitään ennen vaahton levittämistä. XENEX^R-kunnostuksessa käytetyt mikrobit saadaan itse kunnostettavasta kohteesta. Tarvittaessa voidaan lisäksi lisätä saasteisiin adaptoituneita mikrobeja. Mikrobit sekoitetaan ravinteiden ja maan pH:ta säätevien aineiden kanssa maaperästä muodostettavaan pelletteihin, jotka levitetään maahan.

Jeltschin (1990) tekemässä kirjallisuusselvityksessä käy kuitenkin ilmi, että yrityksen suorittamat kunnostukset ovat puhdistustulosten kannalta olleet huonosti dokumentoituja. Yleinen vaikutelma on, että käsittelymuodot rajoittuvat pääasiassa vaahton levittämiseen maahan. Yrityksen antamien tietojen mukaan voidaan menetelmiä kuitenkin käyttää mm. polttoöljyllä saastuneen maan puhdistukseen.

Valon (1990) mukaan ei ehkä ole järkevää pyrkiä eristämään erikseen erityisiä öljynhajottajamikrobeja, koska raakaöljy on heterogeeninen seos ja sitä hajottamaan pystyviä mikrobeja on yleisesti paljon maaperässä. Sen sijaan luomalla olosuhteet optimaaliseksi öljyn mikrobiologisen hajotuksen kannalta öljyn hajotusta voidaan lisätä öljynhajottajamikrobien määrän ja lajiston kasvaessa.

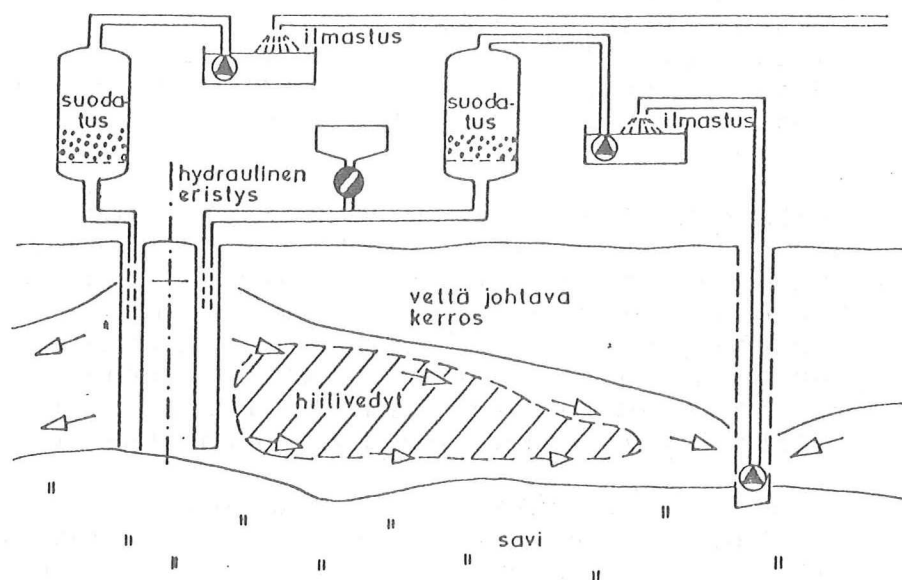
8.1.2 Öljy syvässä maassa

Varsinaisiin in situ -menetelmiin liittyy tavallisesti hydraulisia toimenpiteitä. Hydraulisten toimenpiteiden tarkoitus on toisaalta ravinteiden ja hapen kuljetus saasteiden läheisyyteen, ja toisaalta

saasteiden huuhteleminen pumpattavaan tai erillisessä prosessissa puhdistettavaan pohjaveteen (Soczó & Staps 1988).

Jeltschin (1990) tekemän kirjallisuusselvityksen mukaan varsinaisia mikrobiologisia in situ -menetelmiä voidaan käyttää myös yhdessä muiden maan kunnostusmenetelmien kanssa. Esimerkiksi pohjaveden pinnalla kelluvan öljyn poiston jälkeen maaperän huokostilaan jäävä öljy voidaan hajottaa mikrobiologisesti in situ -menetelmällä.

Jeltschin (1990) tekemässä kirjallisuusselvityksessä yhdistetyllä mikrobiologisella in situ -menetelmällä tehty kunnostus jakautuu kahteen osaan. Pumppaamalla poistettu pohjavesi puhdistetaan ilmastoinnin ja aktiivihiilisuodatuksen avulla. Nitraattilisäyksen jälkeen se imeytetään jälleen kiertovetenä maahan. Imeytyspisteen läheisyydessä imeytetään samalla puhdasta (tai puhdistettua) vettä maahan, jotta syntyvä hydraulinen vedenjakaja suojaisi ympäröivää pohjavettä (kuva 12). Yleensä maaperästä poistetaan ensin kontaminaation vapaa faasi esim. pumppaamalla, ennenkuin maaperää käsitellään ravinto- ym. liuoksilla (Ghassemi 1988).



Kuva 12. Mikrobiologinen in situ -kunnostus. Jeltschin (1990) kirjallisuusselvityksen mukaan.

Useimmat mikrobiologiset in situ -kunnostusmenetelmät perustuvat siis veden kiertoon. Veteen lisätään mikrobiologisen hajoamisen tehostamiseksi mikrobeille tarpeellisia ravinteita ja happea. Öljyn hiilivetyjen

vesiliukoisuutta parannetaan lisäämällä veteen myös pinta-aktiivisia aineita l. detergenttejä. Detergenttien käytössä on varmistuttava niiden myrkyttömyydestä, ja siitä että ne ovat biologisesti hajoavia (Schussler & Webb 1988, Törrönen 1990). Myös mikrobiymppejä voidaan lisätä veteen (Soczo & Staps 1988).

Happi on usein syvemmissä maakerroksissa mikrobiologista hajotusta rajoittava tekijä. Hapen lisäys kierto- ja pohjaveteen on usein välttämätöntä. Maaperän suora ilmastaminen on yleinen toimenpide, mutta se ei ole osoittautunut riittäväksi menetelmäksi suurissa saastepitoisuuksissa. Tehokkaampi menetelmä on maaperän huuhtominen vetyperoksidi-, nitraattiliuoksilla tai otsonilla (Jeltsch 1990).

Nitraatin käyttö on kuitenkin kyseenalaista maaperän ja pohjavesien korkean nitraattikuormituksen vuoksi. Lisäksi nitraatti (NO_3^-) voi pelkistyä hyvin myrkylliseksi nitriitiksi (NO_2^-) (Schwefer 1988). Öljyn mikrobiologinen hajotus on myös pääasiassa aerobinen prosessi, joten öljyn hiilivetyjen hajottaminen nitraatin pelkistyksellä on anaerobisissa olosuhteissa hyvin vähäistä.

Verrattuna happeen vetyperoksidin liukoisuus veteen on rajaton. Vetyperoksidin ansiosta happea voidaan kuljettaa enemmän syvemmälle maahan. Sen käyttö perustuu siihen, että vesiliuoksessa vetyperoksidi hajoaa osittain hapeksi ja vedeksi (Schwefer 1988):



Erään arvion mukaan vetyperoksidiliuoksen käyttö syvällä maassa olevan öljyisen maan puhdistuksessa parantaa maan mikrobien hapensaantia 25 kertaisesti verrattuna ilmastukseen. Vetyperoksidin toksisuus ja liuoksen epästabiilisuus rajoittavat kuitenkin jossain määrin menetelmän soveltamista (Chowdhury 1986). Schweferin (1988) mukaan vetyperoksidia saa vedessä olla alle 1%, suuremmat pitoisuudet ovat myrkyllisiä mikrobeille.

Hinchee ym. (1990) mukaan hapen pumppaaminen saastuneeseen maahan kaasuna on tehokkaampi keino lisätä mikrobien hapensaantia syvällä maassa kuin hapen lisääminen veteen. Jos happea lisätään kaasuna ei maakerrosten läpi tarvitse pumpata kohtuuttomia määriä vettä. Lundin & Gudehusin (1990) mukaan puhtaan hapen, otsonin ja vetyperoksidin käyttö on myös suhteellisen kallista.

Yhden diesel litran hävittämiseksi maasta joudutaan maan läpi pumppaamaan valtavat määrät vettä, kun tiedetään että, happea liukenee veteen 20 °C:ssa ja normaalissa ilmanpaineessa noin 9 mg/l:an ja yhden diesel litran mikrobiologiseen hajottamiseen on arvioitu tarvittavan noin 3800 g happea. Puhdasta

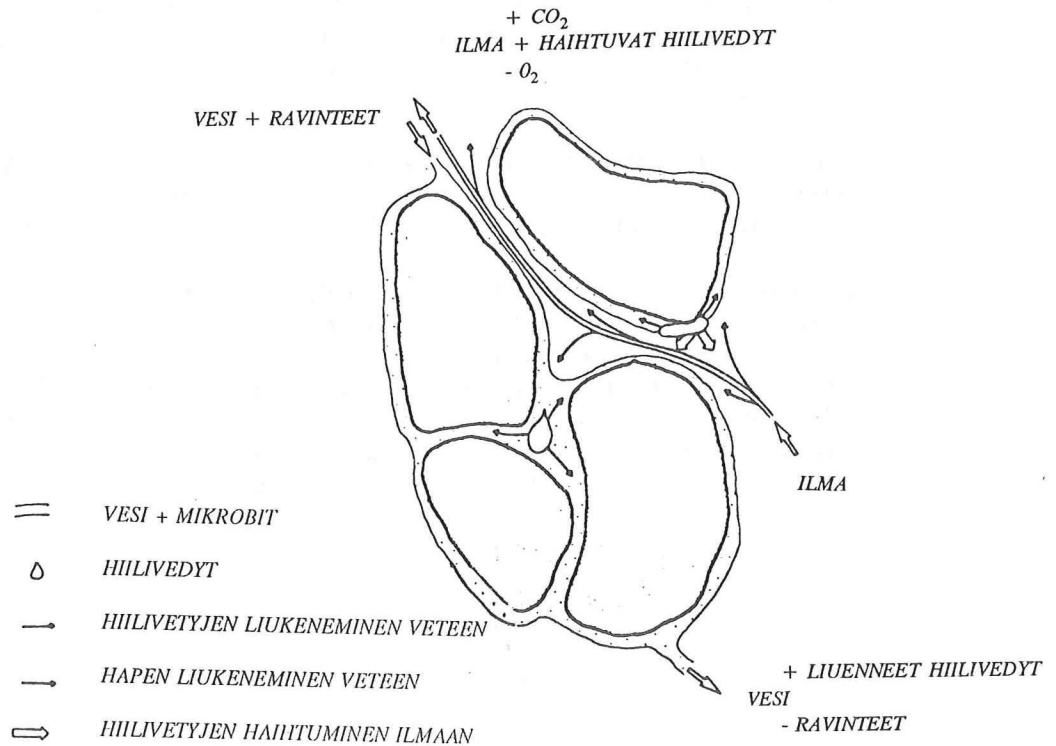
happea ja otsonia voidaan lisätä veteen arviolta 40 mg/l (Schwefer 1988). Vaikka vetyperoksidi on tehokas tapa lisätä happea maahan, niin sen käytössä joudutaan myös maakerrosten läpi pumppaamaan kohtuuttomat määrät vettä (Hinchee ym. 1990).

Lisäksi on havaittu paikallisen korkean happipitoisuuden aiheuttavan mangaanin ja raudan saostumista vesiruisukujen ympärillä. Tällöin maaperän läpäisevyys vähenee entisestään ja in situ -menetelmien käyttö huononee (Lund & Gudehus 1990).

Kaasut levittyvät tasaisemmin geologisesti heterogeeniseen maahan, koska niiden diffuusio on nesteitä suurempi. Vesi leviää epätasaisesti; se kulkeutuu nopeimmin läpäisevien maakerrosten, kuten rakeisen hiekan läpi (Hinchee ym. 1990). Wilsonin & Wardin (1986) mukaan erityisesti syvällä maassa olevan saastuneen alueen ilmastamiseksi hapen lisäys maahan kaasuna voi olla 1000 kertaa tehokkaampi menetelmä, kuin lisätä sitä veden mukana.

Öljyllä saastuneen maan in situ -kunnostusmenetelmissä öljyn häviäminen maasta tapahtuu usein sekä mikrobiologisesti hajoamalla että myös fysikaalisesti haihtumalla. Helposti haihtuvilla öljyn hiilivedyillä kuten bensiinillä saastunutta maata voidaan puhdistaa fysikaalisesti pumppaamalla ilmaa maakerrosten läpi. Sen sijaan jos maa on saastunut vähemmän haihtuvilla hiilivedyillä kuten esim. dieselöljyllä, ei pelkkä maakerrosten ilmastaminen riitä. Öljyn mikrobiologinen hajoaminen sen sijaan kiihtyy maakerroksia ilmastettaessa (Lindhardt & Jacobsen 1990).

Lundin & Gudehusin (1990) in situ -menetelmässä öljyn hiilivedyt häviävät maasta mikrobiologisesti hajoamalla ja fysikaalisesti haihtumalla maan läpi kulkevissa ilma- ja vesivirroissa. Saastuneeseen maahan on rakennettu horisontaalisesti kulkevien ilmastusputkien verkosto. Maan päälle rakennetusta kastelujärjestelmästä vesi suodattuu vertikaalisesti maakerroksen läpi lisäten mikrobien aktiivisuutta. Öljyn hiilivedyt liukenevat veteen, jossa mikrobit hajottavat niitä. Mikrobien kuluttamaa happea diffundoituu koko ajan lisää ilmastusputkista. Maan päälle rakennettavassa reaktorissa suodattuvat poistuvassa vedessä ja ilmassa olevat haihtuvat hiilivedyt (kuva 13) (Lund & Gudehus 1990).



Kuva 13. Öljyn hiilivetyjen haihtuminen ja liukeneminen maassa. Tässä *in situ* -menetelmässä maan läpi kulkee ilma- ja vesivirtoja (Lund & Gudehus 1990).

8.1.3 Menetelmän toteutus

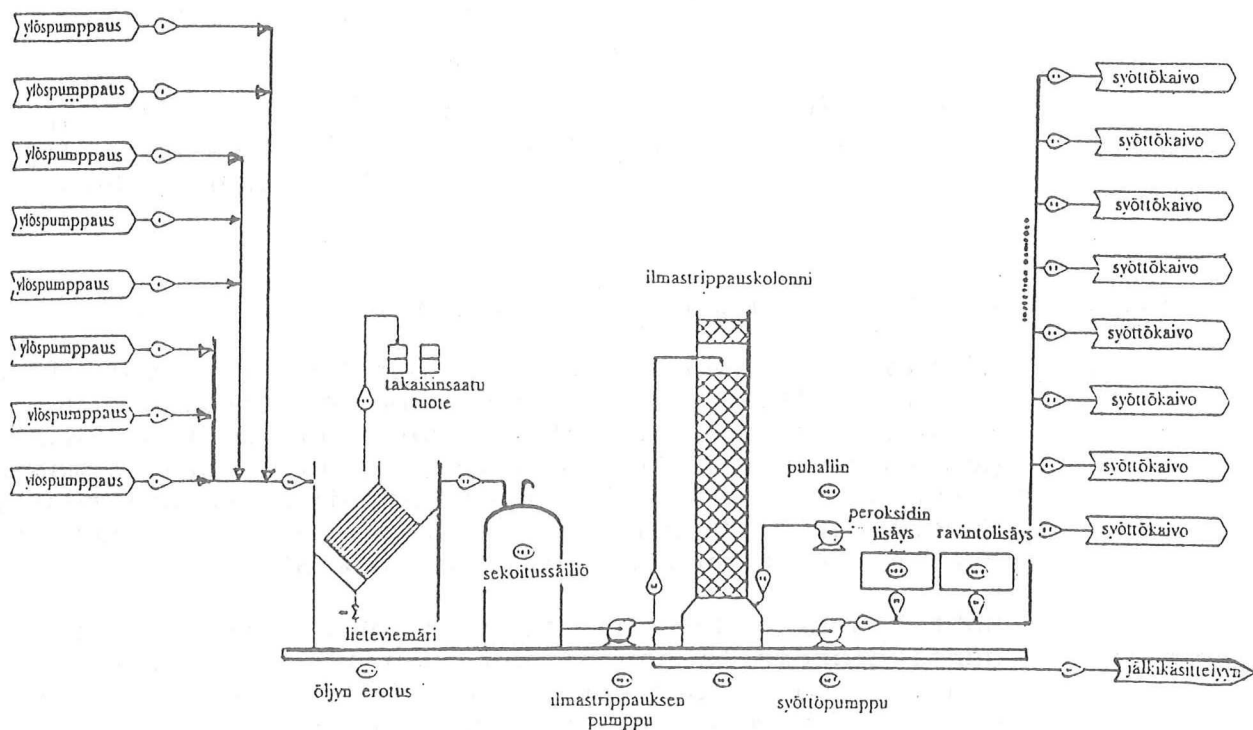
Käytännön kokemukset *in situ* -menetelmästä ovat vielä hyvin rajoitetut, koska menetelmä on verrattain uusi. Hollannissa on kuitenkin suhteellisen tehokkaasti puhdistettu polttoöljyllä saastunutta maata rakennusten alta ja huoltoasemien ympäristöstä. Menetelmän kustannuksia on vaikea arvioida, sillä ne ovat hyvin tapauskohtaisia (Soczo & Staps 1988).

Huhtikuussa 1990 aloitettiin Hollannissa eräällä bensiiniasemalla saastuneen maan *in situ* -kunnostus. Bensiinillä saastuneen maan (1500 m³) öljypitoisuus oli korkeimmillaan 12 000 mg/kg (1.2 %) ja keskimäärin 4800 mg/kg (0.48 %). Bensiini oli imeytynyt 2 - 4.5 m syvyyteen maahan ja pohjavesi oli osittain saastunut. Saastuneen alueen *in situ* -kunnostuksen on arvioitu kestävän 6-12 kuukautta. Kustannusten on laskettu olevan pienemmät kuin jos alue kunnostettaisiin polttamalla tai kaivamalla saastunut maa ylös (van den Berg ym. 1990).

Muita kuin hiekkaperäisiä maita kunnostettaessa on mikrobiologisen *in situ* -menetelmän kanssa käytettävä muita menetelmiä. Heinäkuussa 1987 Saksassa

aloitettiin yhdistetty pesu- ja mikrobiologinen kunnostus tiiviissä kalkkipitoisessa maassa, johon oli valunut 70 m³ polttoainetta (kuva 14). Ensimmäisen vuoden aikana öljypitoisuus laski noin 50 % (Schwefer 1988).

Ennen mikrobiologista käsittelyä pumpattiin vapaana oleva bensiinifaasi (4 m³) maaperästä pois ja kaasuuntuneita hiilivetyjä poistettiin ilmastamalla maata. Kunnostuksessa kohotettiin pohjaveden tasoa, alueelle rakennettiin huuhteluliuksen kiertojärjestelmä ja stimuloitiin mikrobiflooran toimintaa. Keräilykaivoista huuhteluvesi johdettiin puskurisäiliön kautta strippauskolonniin, missä liuenneet ja helposti haihtuvat yhdisteet poistuvat huuhteluvetestä. Huuhteluveteen lisättiin vetyperoksidia, fosforia ja ammoniumravinteita, ennen kuin se johdettiin takaisin maahan (Schwefer 1988).



Kuva 14. Huonosti läpäisevän maaperän kunnostaminen yhdistetyllä pesu- ja mikrobiologisella menetelmällä (Schwefer 1988).

Saksassa, Baijerissa bensiiniasemalla tapahtuneessa onnettomuudessa 5000 l dieselöljyä valui maahan. Öljy levisi 20 m x 12 m suuruiselle alueelle ja ulottui noin kuuden metrin syvyyteen maahan. Maaperän suurin öljypitoisuus oli 25 000 mg/kg maata (2.5 %). Yhdeksän kuukauden edellämainittujen tehokkaiden in situ -kunnostusmenetelmien jälkeen maan öljypitoisuus väheni alle 1000 mg/kg l. noin 0.1 % tasolle (Rosenbrock & Niebelschütz 1990).

Kylmät ilmasto-olosuhteet voivat rajoittaa Suomen olosuhteissa in situ -menetelmien tehokkuutta. Öljyn mikrobiologinen hajoaminen on lähes täysin rajoittunut kasvukauteen; kevääseen ja kesään.

8.2 ON SITE -MENETELMÄT

8.2.1 P e l t o k ä s i t t e l y

8.2.1.1 Periaate ja vaatimukset

Peltokäsittelyssä öljyistä massaa levitetään ja sekoitetaan maan pintakerrokseen, jossa mikrobit hajottavat sitä. Maata hoidetaan säännöllisesti äestämällä ja kyntämällä, jotta olosuhteet mikrobien hajotustoiminnalle pysyisivät suotuisana.

Yhdysvalloissa peltokäsittelyä on käytetty runsaat 30 vuotta erityisesti öljynjalostamoiden jätteiden käsittelyyn. Myös Euroopan jalostamoilla on peltokäsittelystä pitkäaikaisia kokemuksia. Vaikka peltokäsittelyä on käytetty ennen kaikkea öljyjalostamoiden öljynerotusaltaiden pohjalietteiden, jätevesien kemiallisen puhdistussakan sekä öljysäiliöiden pudistusmassojen käsittelyyn, voidaan myös muita öljyjätteitä käsitellä tällä tekniikalla, kunhan jäte täyttää tietyt perusedellytykset (Hasenson 1984, 1986).

Öljyjätteen täytyisi olla suhteellisen homogeenista massaa, koska jätettä sekoitetaan mikrobitoiminnan hapensaannin varmistamiseksi. Happoja, emäksiä, myrkyllisiä aineita, raskasmetalleja ja biologisesti vaikeasti hajoavia yhdisteitä sisältävää öljylietettä ei saisi levittää pellolle (Anon 1980a).

Peltokäsittelyä suunniteltaessa on erityisesti varmistuttava siitä, ettei pinta- ja pohjavesiin pääse valumaan öljyä. Käsittelyalue olisi mieluummin rakennettava alueelle, missä pohjavesialueita ei ole tai pohjaveden pinta on alhaalla. Käsittelyalueeksi sopiva maa on savipohjainen. Sopivan maa-alueen puuttuessa tai pohjaveden suojelemisen tehostamiseksi voidaan käsittelyalue rakentaa muovikalvon päälle (Jeltsch 1990). Muovikalvo (esim. 0.5 mm PVC) peitetään ensin hiekkakerroksella, joka salaojitetaan mahdollisten suotovesien talteen ottamiseksi (Soczo & Staps 1988). Pintavesien suojelemiseksi olisi lisäksi

käsittelyalueen ympäristö ojitettava, ja alueelta valuvat sadevedet kerättävä talteen (Jeltsch 1990).

Jäte sekoitetaan heti levityksen jälkeen maahan noin 20-30 senttimetrin syvyydellä. Aluksi maata käännetään niin usein, kunnes öljy on kunnolla sekoittunut maahan. Varsinaisessa käsittelyvaiheessa maata ilmastoidaan kääntämällä ja tasoitetaan äestämällä aina maan laadusta ja öljystä riippuen muutaman viikon välein. Maan sekoittamista jatketaan niin pitkälle syksyyn, kun vain on mahdollista. Talvella maata ei sekoiteta, eikä uutta lietettä levitetä peltoon (Hasenson 1986).

Käsittelyalueen täytyisi olla mahdollisimman tasainen, sillä pellon keskelle jäävien notkelmien kuivuminen on hyvin hidasta. Pellon lievä kaltevuus on edullista toiminnan vesitaloudelle (Hasenson 1986).

Öljyn hajotusta tehostetaan lisäämällä peltoon ravinteita. Lisättävät lannoitemäärät riippuvat jätteen ja maan laadusta, jätteen määrästä ja öljyn hajotusnopeudesta. Yleisiä ohjeita öljyiselle maalle suotuisaksi hiili-typpi-fosfori -suhteeksi on annettu mm. 500:10:1 (Hasenson 1986) ja 250:10:1 (Soczo & Staps 1988). Liian suuri lannoitelisäys voi aiheuttaa ravinteiden huuhtoutumisen pellosta, erityisesti nitraattien on todettu huuhtoutuvan (Anon 1980a).

Jätteen öljypitoisuus ja pelloille vuosittain levitettävä jättemäärä määräävät käsittelyalueen pinta-alan. Tutkimusten mukaan 1 m² suuruiselle peltoalalle voidaan levittää korkeintaan 5-10 kg öljyä (Anon 1980b). Suomessa öljyn hiilivedyistä noin 90 % hajoaa peltokäsittelyssä neljän vuoden aikana (Hasenson 1986). Tähän perustuen voidaan käsittelyalueen pinta-ala laskea seuraavasti (Hasenson 1986):

$$A = 4 \times 10^{-4} \times Mc$$

A = pinta-ala hehtaareina

M = öljyisen jätteen määrä (m³/v)

c = jätteen öljypitoisuus (%)

Öljyisen jätteen täytyisi olla puolikuivaa, ja sen öljypitoisuus olla alle 25 %, jotta jätteen sekoittaminen maahan onnistuisi ja välttyttäisiin öljyn valumiselta ympäristöön. Suomessa voidaan 1 ha suuruiselle pellolle levittää vuodessa 200-500 m³ öljyjätettä, jos jätteen öljypitoisuus on 10-20 % (Hasenson 1984).

Öljyn mikrobiologisen hajotuksen alkamista voidaan nopeuttaa lisäämällä peltoon mikrobiymppejä. Mikrobien lisäystä peltoon on erityisesti suosittu kylmissä olosuhteissa tai silloin, kun öljyn biologisen hajoamisen alku on jostain syystä vaikeaa.

Hajonnutta öljyistä maata sisältävä mikrobiymppi voisi olla suuruudeltaan 10 % käsittelyalueen pintamaasta, jolloin 2 cm:n kerros ymppiä sekoitetaan 20 cm:n syvyyteen asti (Anon 1980a).

Mikrobiymppien käytöstä on kiistelty paljon. Mikrobiymppejä ei tarvitsisi levittää pelloille, joille öljyistä massaa lisätään jatkuvasti. Luonnon oma öljynhajottaja mikrobifloora on tavallisesti jo ehtinyt kehittyä peltoon. Tällöin pienikin öljyn lisäys saa nopeasti aikaan mikrobimäärän kasvun ja näin öljyn biologisen hajotuksen (Anon 1980a).

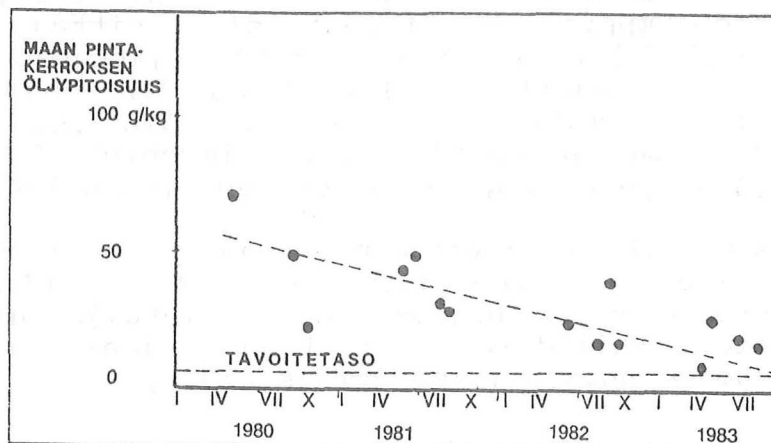
Jos peltokäsittelyalue peitetään, sitä ilmastetaan ja lämmitetään kuumalla ilmalla voidaan öljyn mikrobiologista hajoamista ja haihtuvien hiilivetyjen häviötä kiihdyttää. Tällöin voidaan myös puhua kompostoinnista (Visscher ym. 1990).

8.2.1.2 Toteutus

Suomessa ensimmäinen peltolevityskoe tehtiin vuonna 1975. Naantalin jalostamon läheisyyteen 1000 m² suuruiselle pellolle levitettiin raskasta polttoöljyä 8 kg/m² (80 000 kg/ha), jolloin maan öljypitoisuus oli pintamuokkauksen jälkeen 50 g/kg maata (5 %). Peltoa äestettiin säännöllisesti ja sitä kasteltiin kuivana aikana koko tutkimusajan. Peltoon lisättiin myös kalkkia, typpeä ja fosforia. Maan öljypitoisuus aleni kolmen kesän aikana 80 %. Lisäksi kokeen lopussa kylvetty rairuoho kasvoi koko alueella, mikä osoitti lisätyn öljyn hajonneen kasveille haitattomalle tasolle (Hasenson 1984, 1986).

Peltokäsittely otettiin vakituisesti käyttöön Porvoon tuotantolaitoksilla vuonna 1980. Koko peltokäsittelyalue oli alkuaan runsaan kolmen hehtaarin suuruinen (nykyään se on noin 10 ha; Huurinainen 1990), josta aina vain yksi neljännes vuosittain on ollut öljyisen jätteen levityksessä. Peltoja hoidetaan neljän vuoden kierrolla; neljän vuoden kuluttua vanha pelto otetaan taas lietteen levitykseen. Kaikkia peltolohkoja on kuitenkin hoidettu samalla tavalla neljän vuoden aikana: kyntämällä ja äestämällä. Kalkituksen avulla on maan pH pidetty neutraalin vaiheilla (pH 7-8). 1-2 kertaa vuodessa tehtävin ravinnelisiäyksiä on pyritty hiili-typpeä-fosfori -suhteeseen 500:10:1. Vuonna 1985 C:N:P -suhde muutettiin 800:60:1 (Hasenson 1986).

Neljän vuoden aikana öljyn hiilivedyistä hajoaa noin 90 % (kuva 15). Öljylietteen hajotusnopeus on keskimäärin ollut 0.5-2 g öljyä vuodessa maan kuiva-ainekiloa kohti (Hasenson 1986).

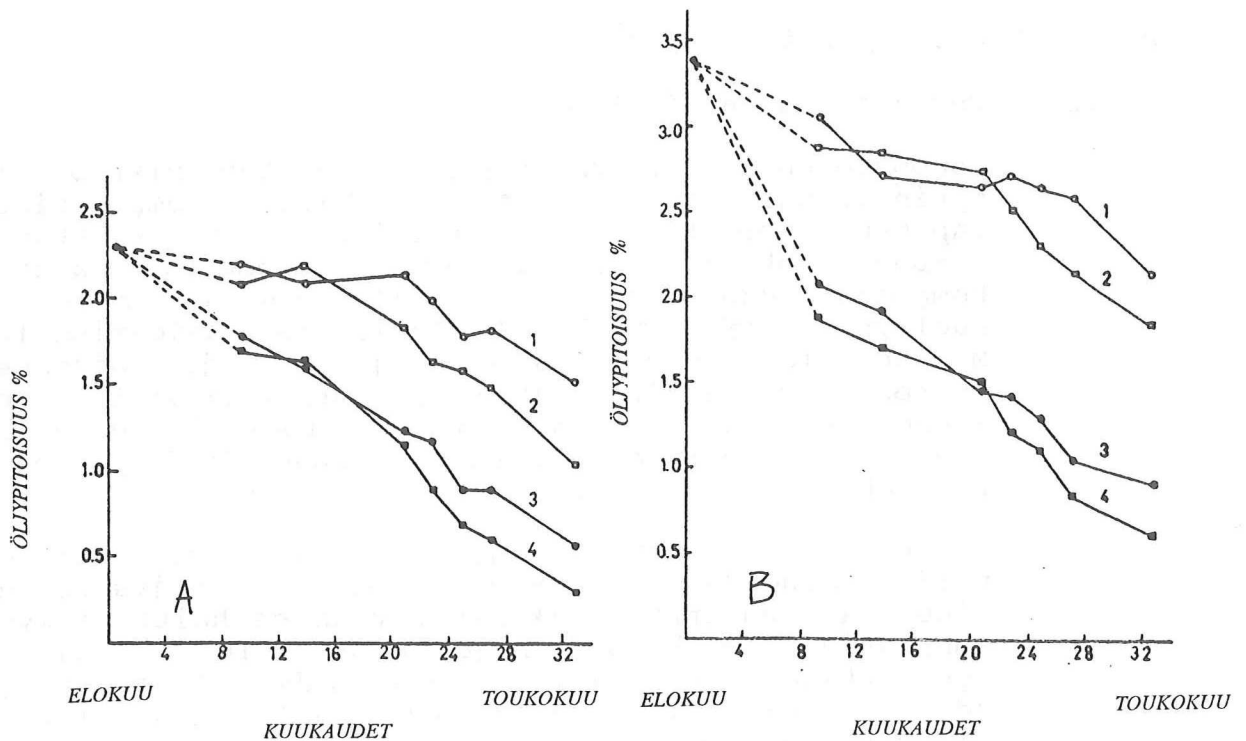


Kuva 15. Öljypitoisuuden väheneminen Porvoon tuotantolaitoksilla peltokäsittelyssä (Hasenson 1984).

Huurinaisen (1990) mukaan Porvoon tuotantolaitoksilla käytetään nykyään peltolevitykseen jätteitä, joiden öljypitoisuus on noin 5 %. Jätteet, joiden öljypitoisuus on suurempi, hävitetään polttamalla.

Vuonna 1982 aloitettiin Naantalın jalostamoilla myös täysimittainen peltokäsittely. Käsiteltujen lietteiden öljypitoisuus on ollut 10-15 %. Pelloille on levitetty yleensä noin 300 m³ jätettä vuodessa noin 10 kg/m². Öljyn hiilivedyistä on 80-90 % hajonnut neljän vuoden aikana (Hasenson 1986).

Etelä-Norjassa tehdyssä peltokäsittelykokeessa öljylietettä, jonka öljypitoisuus oli 6-12 %, levitettiin pelloille 1000 m³ hehtaarille. Koska tutkittuja pelloja oli kahdenlaisia (pelto a: aikaisemmin saastunut öljyllä ja pelto b: aikaisemmin ollut maanviljelyskäytössä), niin maan pintakerroksen öljypitoisuus äestämisen jälkeen oli pellolla a noin 2.5 % ja pellolla b noin 3.5 %. Pelloja lannoitettiin erisuuruisilla typpi-fosfori-kalium -seoksilla (25-3-6). Vajaan kolmen vuoden kuluttua (32 kk) kokeen aloittamisesta noin 80 % öljystä oli hajonnut kummallakin koepellolla, kun peltoon oli lisätty typpeä 600 kg/ha vuodessa (kuva 16) (Sandvik ym. 1986).



Kuva 16. Lannoitteiden vaikutus öljyn mikrobiologiseen hajoamiseen pellossa Norjassa (pelto a & pelto b). Käyrä 1 on kontrolli (ei lannoitusta). Lannoitteiden typpipitoisuudet: 200 (2), 400 (3) ja 600 (4) kg N/ha (Sandvik ym. 1986).

Hollannissa tehdyissä peltokäsittelyissä öljypitoisuus on yhden vuoden aikana vähentynyt jopa 95 %. Eniten öljyä hajosi niillä peltokäsittelypaikoilla, missä maahan lisättiin lannoitteita ja kuoriketta (5 % volyymistä). Tutkittu öljypitoisuus on esitettyihin pohjoismaisiin tutkimuksiin verrattuna suhteellisen pieni; kokeen alussa oli öljypitoisuus keskimäärin 2300 mg/kg (0,23 %) ja kokeen lopussa 135 mg/kg (de Kreuk & Annokkée 1988).

Hasensonin (1986) mukaan peltokäsittelyssä hajoamaton osa öljyä (10-20 %) koostuu hyvin hitaasti hajoavista raskaista hiilivedyistä, jotka heikon reaktiivisuutensa vuoksi eivät ole osoittautuneet ympäristölle haitallisiksi. Salkinoja-Salosen & Valon (1988) mukaan öljyn epätäydellisen biologisen hajoamisen vuoksi peltoihin kertyy mikrobien hydroksylaatio- ja polymerisaatioreaktioiden tuloksena "biologista pikeä" mm. vahoja. Ajan kuluessa öljypellon hajotuskyky heikkenee vähitellen, vaikka riittävällä lannoituksella voidaan öljyn hajoamista parantaa.

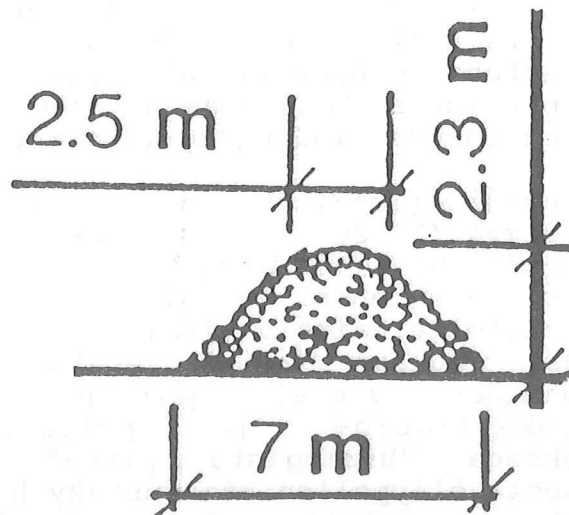
8.2.2 K o m p o s t o i n t i

8.2.2.1 Periaate ja vaatimukset

Kompostoinnissa öljyn hajotus tapahtuu mikrobeille hyvin suotuisissa ympäristöolosuhteissa. Kompostointi tapahtuu aerobisissa, kosteissa ja riittävän lämpöeristetyissä olosuhteissa. Prosessin aikana kompostoitavan massan lämpötila nousee, mikä on edellytys tehokkaalle biologiselle hajoamiselle. Mikrobeille täytyy olla tarpeeksi ja oikeassa suhteessa ravinteita saatavilla. Suotuisa hiili-typin -suhde voisi olla 25-35:1 ja hiili-fosfori -suhde 75-150:1, sekä sopiva kosteuspitoisuus 60-70 % maan kenttäkapasiteetista (Reinikainen 1989).

Öljyn laatu vaikuttaa öljyn ja kompostissa olevien muiden aineiden hajoamiseen. Kestävä öljyseos ei ainoastaan hajonnut vaikeasti, vaan se haittasi myös kompostin muun jätteen hajoamista. Helposti hajoava synteettinen öljy hajosi itse lähes kokonaan ja edisti samalla muun jätteen hajoamista. Raakaöljyllä ei sen sijaan näyttäisi olevan vaikutusta muun jätteen hajoamiseen (Suler 1979, Kojo 1988).

Avokompostoinnissa öljyinen maa-aines voidaan sijoittaa joko "kompostointialtaisiin" tai 1-2.5 m korkeisiin ja 3-6 m levyisiin aumoihin (kuva 17) (Reinikainen 1989, Jeltsch 1990). Jos aumakomposti on tarpeeksi suuri, se tuottaa lämpöä enemmän kuin talvi-ilma siitä haihduttaa. Tällöin kompostoitumista tapahtuu myös talvella (Valo 1990).



Kuva 17. Esimerkki kauhakuormaajalla tehdystä aumasta Hämeenlinnan kompostikokeesta (Virtanen 1990).

Riippuen öljyisen jätteen ja maan öljypitoisuudesta täytyy kompostiin lisätä mikrobien hapensaannin tehostamiseksi kuohkeuttavia aineita. Usein kuohkeuttavana aineena on käytetty puunkuorta. Halmøn ja Hoddøn (1985) tekemissä kompostikokeissa luonnon materiaalit: männynkuorike ja lastut olivat parempia kuohkeuttavia aineita kuin synteettiset materiaalit.

Huurinaisen (1990) mukaan voidaan kompostoitavaan jätteeseen joutua sijoittamaan jätteen suuresta öljypitoisuudesta johtuen paljon kuohkeuttavaa materiaalia, jolloin kompostoitavan jätteen tilavuus kasvaa. Tämä voi aiheuttaa ongelmia kompostoidun materian loppusijoittamisessa. Toisaalta jos kompostoinnissa käytetään kierrätettävää ainetta, kuten muovin tai autonrenkaiden paloja, niin kompostoitavan massan tilavuus ei kasva liian suureksi (Valo 1990).

Aumoja ilmastetaan kääntämällä ja sekoittamalla säännöllisesti. Jos kompostiin on rakennettu kastelu- ja ilmastuslaitteet sitä ei tarvitse kääntää. Säännöllisellä näytteenotolla seurataan kompostoitumisen edistymistä; orgaanisen aineen hajoaminen on yleensä hitaampaa aumojen reunoilla. Kompostin peittäminen muovikalvolla voi jossain tapauksissa edistää kompostin pienilmaston muodostumista ja estää öljyn huuhtoutumista (Jeltsch 1990).

Mikrobiymppejä voidaan lisätä kompostiin suoraan saastuneesta maa-alueesta esikasvattamalla niitä. Ymppe voi myös olla samoja saastuneita aineita sisältävää vanhaa kompostimultaa (Jeltsch 1990).

Öljyn biologista hajotusta voidaan nopeuttaa ja suorittaa varmemmin ympäri vuoden, kun käytetään laitekompostointia. Tällöin kompostoitava massa on laitteen sisällä, jolloin öljyn hajoamisolosuhteita (kosteus, ravinteet, lämpötila, happipitoisuus, mikrobi/öljy -kontakti) voidaan säädellä vielä tehokkaammin (Salkinoja-Salonen & Valo 1988).

8.2.2.2 Toteutus

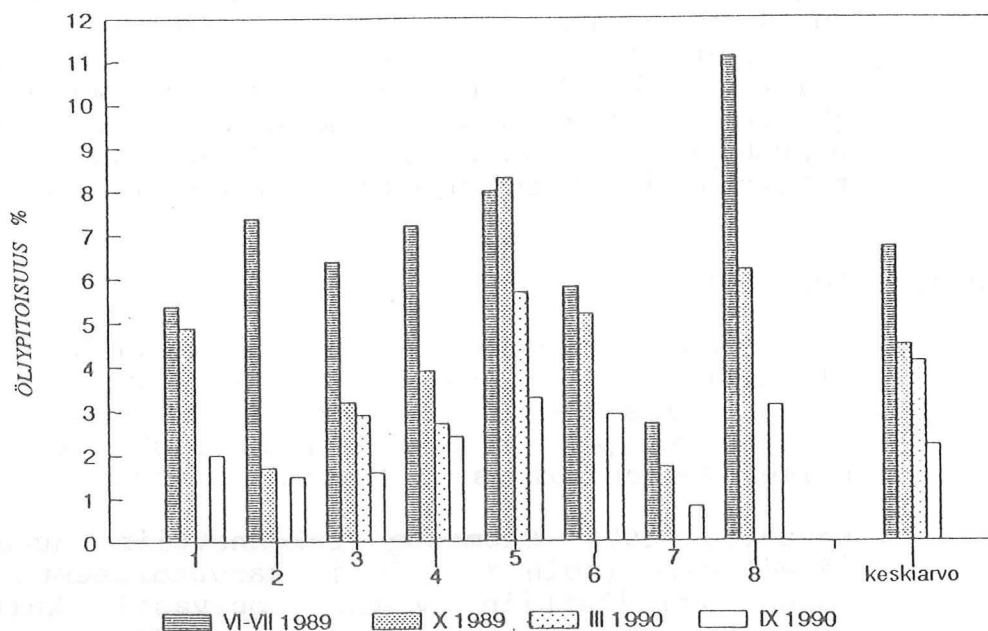
Ruotsissa öljyisen maan kompostointikokeet aloitettiin 60-luvulla. "Kompostointialtaisiin" rakennetuissa öljyistä maata sisältävissä aumoissa jätteen öljypitoisuus väheni 14 %:sta noin 3 %:iin kolmen vuoden kuluessa (Saarela 1975).

Keväällä 1978 Suomessa rakennettiin aumakomposti jäteöljystä (noin 2.5 m³) ja kasvuturpeesta (17 m³), johon sekoitettiin vielä sopivasti kalkkia ja lannoitteeksi ureaa sekä superfosfaattia. Aumassa öljyä oli 13 g/kg maata (1.3 %). Kokeilu ei kuitenkaan tuottanut toivottua tulosta; suurimmaksi syyksi oletettiin auman liika tiiviys, joka esti mikrobien hapen saannin. Tilannetta pahensi vielä epätavallisen

sateinen kesä. Auman tilavuutta olisi täytynyt lisätä ylimääraisillä kuohkeuttavilla täyteaineilla (Niemelä 1985).

Hämeenlinnassa aloitettiin syksyllä 1988 sekalaisen öljyisen lietteen kompostointikoe. Kompostoitavaa lietettä oli 8000 m³, jossa öljypitoisuus oli keskimäärin 3.1 %. Kompostiin laitettiin ravinteita ja mikrobisekaviljelmää. Suuret aumat käännettiin kerran vuodessa. Keväällä 1990 öljypitoisuus oli vähentynyt 73 %. Kompostit olivat todennäköisesti toimineet yli talven, sillä öljyn hävikki oli näin suuri ja aumojen keväinen lämpötila oli korkea (Valo 1990).

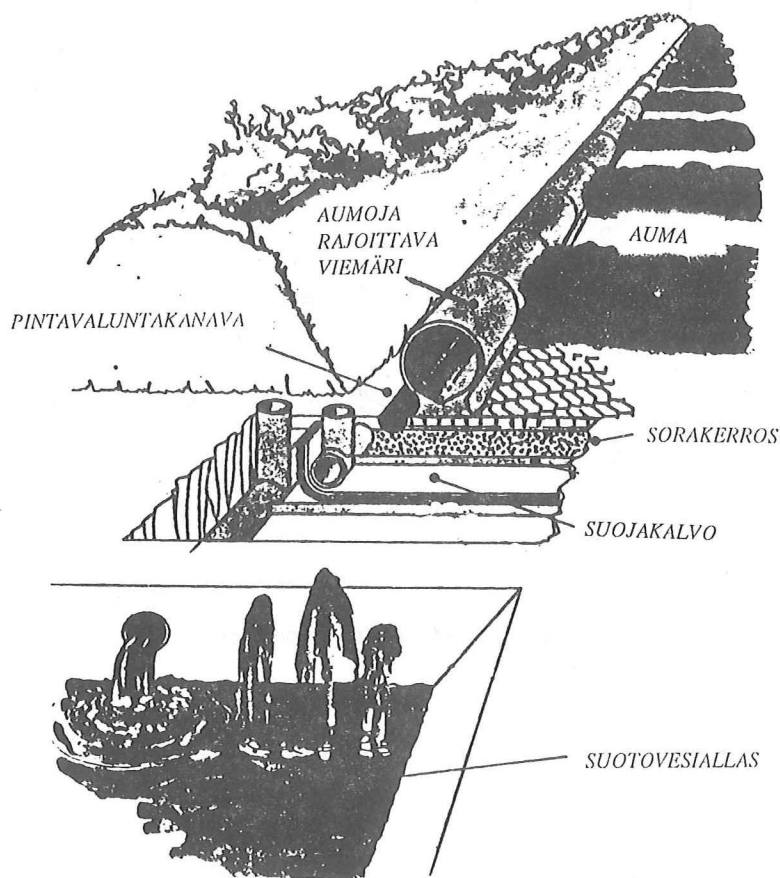
Jyväskylässä Mustankorkean kaatopaikalla aloitettiin keväällä 1989 öljyisen maan kompostointi. Öljynkeräysaltaan pohjalle vuosienkuluessa kerääntynyttä sekalaista jäteöljyä kompostoitiin aumoissa (8 kpl) kahden vuoden ajan. 2750 m³ jäteöljyä sekoitettiin samassa suhteessa männyn kuorirouheeseen. Lannoitteeksi kompostiin sekoitettiin n. 1150 m³ kuivattua puhdistamolietettä sekä n. 10 000 kg ureaa. Lisäksi sekoitettuun massaun lisättiin edellisen kesän koekomposti, noin 70 m³, ikäänkuin mikrobiymppinä. Aumoja hoidettiin kompostointikauden aikana kastelemalla ja käänтелеillä (ensimmäisenä kesänä kolme kertaa, toisena kesänä kerran). Aumojen lämpötilat nousivat ensimmäisenä vuonna korkeiksi; joissain aumoissa jopa yli 60 C⁰:een. Toisena vuonna lämpötilat pysyttelivät suurimmalta osaltaan 20-30 C⁰:ssa. Aumojen pH on pysytellyt neutraalin lähellä (kuva 18) (Martikainen 1989, 1990).



Kuva 18. Öljypitoisuuden (%) väheneminen kahden vuoden aikana 8 kompostiaumassa (Martikainen 1990).

Kompostiaumojen keskimääräinen öljypitoisuus putosi kahden kompostointikauden aikana seitsemästä kahteen prosenttiin, öljyn häviö on ollut keskimäärin 70 % (kuva 18). Ennen kompostointia otettujen näytteiden perusteella helposti hajoavien jakeiden osuuden arvioitiin olevan 70-80 % ja loput 20-30 % olivat erilaisia asfalteeneja ja resiinejä. Kompostoinnin voidaan katsoa olevan turhaa sen jälkeen, kun helpoimmin hajoavat (= vesiliukoiset) ja siten myös ympäristölle usein haitallisimmat jakeet ovat hajonneet (Martikainen 1990).

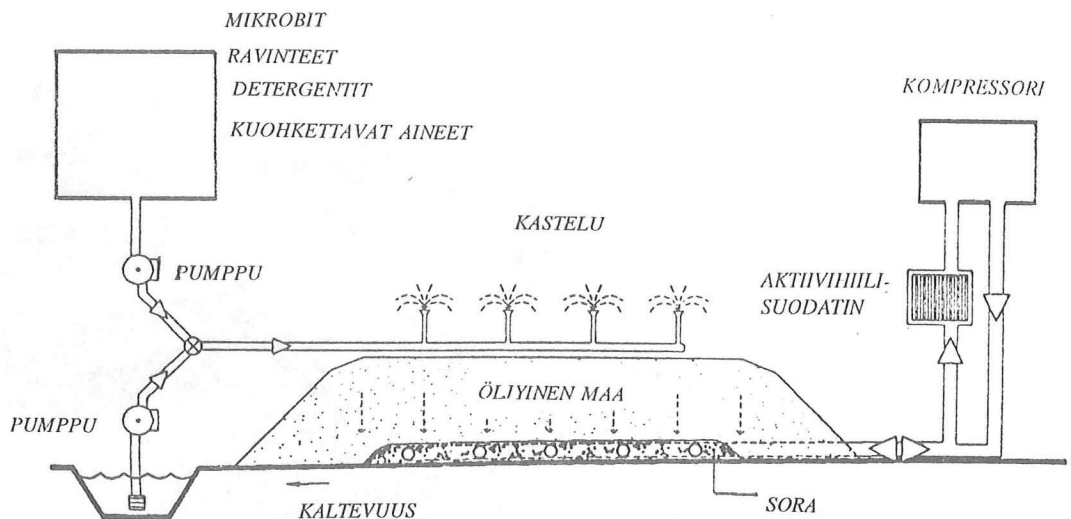
Tanskassa Kalundborgissa sijaitsee 24 000 m² suuruinen öljyisen maan käsittelypaikka. Alueella voidaan käsitellä 50 000 tonnia öljyistä maata vuodessa. Saastunut maa, jonka öljypitoisuus suurimmillaan saa olla 5 %, puhdistetaan kompostoimalla sitä aumoissa. Alueella ympäristönäkökohdat on huomioitu tarkasti; aumat on rakennettu moneen kertaan eristetyille maalle ja mahdolliset suotovedet kerätään hyvin tarkaan talteen (kuva 19) (Schiøtz Hansen 1988).



Kuva 19. Esimerkki hyvin hoidetusta suotovesien talteenotosta öljyisen maan kompostointipaikalla (Schiøtz Hansen 1988).

Kanadassa kehitettyä öljyn kompostointimenetelmää voidaan harjoittaa, kun ulkoilman lämpötila on jopa -20 °C:ssa (kuva 20). Sopivan kalteva alue vuorattiin läpäisemättömällä muovilla, jonka päältä kerättiin prosessissa kierrätettävät suotovedet talteen. Öljyinen jäte levitettiin muovin päälle kasatun sorakerroksen päälle. Aumaa ilmastoitiin, lisäksi tarkkailtiin lämpötilaa ja poistuvia kaasuja. Aumaan lisättiin ravinteita, mikrobiymppejä ja detergenttejä (Labrie & Cyr 1990).

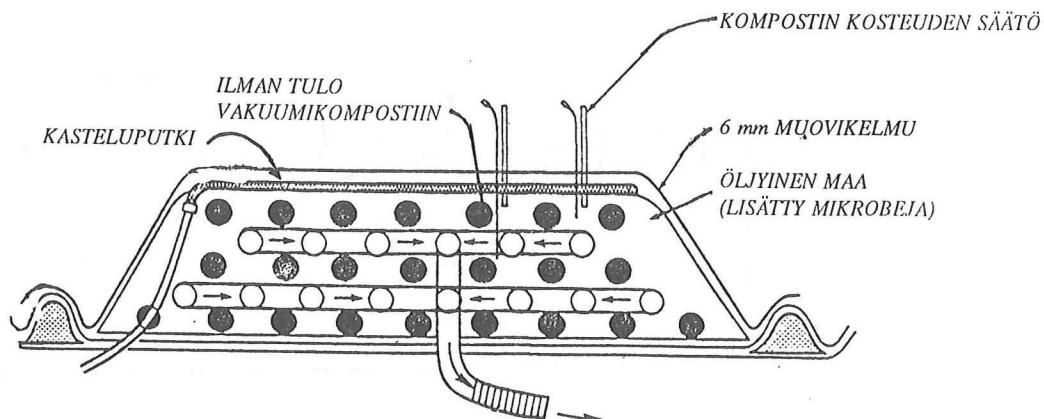
Itse kompostointikokeessa öljytankkerin onnettomuuden seurauksena kerättiin rannoilta 300 m³ hiekkaa, kiviä ja liejua sekä kasveja sisältävää öljyistä jätettä. Jätteen öljypitoisuus oli noin 30 %. Noin puolen vuoden kuluttua kompostoinnin aloittamisesta jätteen öljypitoisuus väheni alle yhteen prosenttiin (Labrie & Cyr 1990).



Kuva 20. Öljyjätteen kompostointi aumassa (Labrie & Cyr 1990).

Samantapaisia yhdistettyjä öljyn kompostointi- ja bioreaktorimenetelmiä on kehitetty paljon myös Yhdysvalloissa ja Euroopassa. Kompostointimenetelmiä on erilaisia; ne eroavat toisistaan jonkun rakenteellisen yksityiskohdan vuoksi esim. "vakuumimenetelmässä" kompostia ilmastoidaan tehokkaasti aumaan asennettujen reiällisten

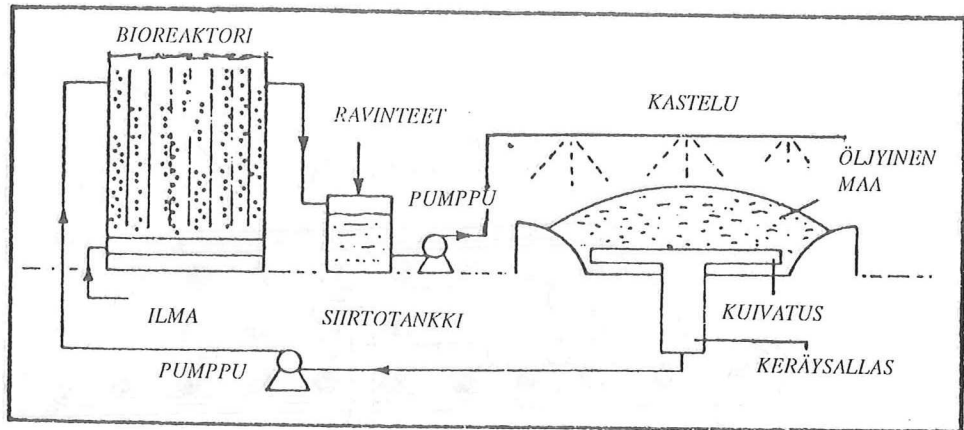
muoviputkien läpi imemällä ulkoilmaa kasan läpi vakuumin avulla (kuva 21). Toisessa kompostoinnissa aumaa taas huuhdellaan jatkuvasti detergenttiliuoksilla, ravinteilla ja mikrobeilla (von Wedel ym. 1990).



Kuva 21. Vakuumin avulla ilmastettava komposti (von Wedel ym. 1990).

Pääpiirteittäin menetelmä on kuitenkin kaikissa sama. Öljyinen maa kaivetaan ylös maasta ja levitetään muovilla eristetyille sorapatjalle. Aumaa kastellaan liuoksella, jossa on öljyn hajotukseen erikoistuneita bakteereja, ravinteita ja biologisesti hajoavia pinta-aktiivisia aineita. Suotovedet, joihin öljy uuttuu maan partikkeleista, johdetaan lähellä olevaan bioreaktoriin, jossa spesifiset mikrobit hajottavat liuenneen öljyn. Sen jälkeen vesi johdetaan takaisin kompostiin. Öljyn mikrobiologinen hajoaminen tapahtuu sekä bioreaktorissa että aumassa. Auma voidaan tarvittaessa peittää läpäisemättömällä muovilla, jolloin estetään haihtuvien hiilivetyjen pääsy ilmaan. Muovikalvo pitää edelleen aumaa kosteana ja kohottaa sen lämpötilaa, mikä lisää mikrobiaktiivisuutta (kuva 22) (Stroh ym. 1990).

Öljyn laatu, sen sisältämät eri hiilivetyfraktiot, vaikuttaa suuresti siihen, missä määrin öljy saadaan häviämään maasta. Saksassa tehdyissä kolmessa maan kunnostustyössä selvitettiin kolmen eri öljyalaadun kompostoitumista. Öljyinen maa kompostoitui katetuissa aumoissa edellä mainitulla tavalla. Kussakin tapauksessa tehtiin esitutkimukset laboratorioissa, joissa selvitettiin kunkin saasteen mikrobiologista hajotusta rajoittavia tekijöitä.



Kuva 22. Saastuneen maan mikrobiologinen kunnostus yhdistetyllä kompostointi- ja bioreaktorimenetelmällä (Schüssler & Kroos 1990).

Krefeldin vanhan kaasulaitoksen saastuttamassa maassa (7000 m³) öljystä hajosi 80-90 %. Veteen liukenemattomat ja mikrobiologisesti hajoamattomat tervayhdisteet ja vahat jäivät jäljelle. Münchenissä sen sijaan kuuden kuukauden kompostoinnin jälkeen mineraaliöljyllä saastuneen hiekka-soramaan (2000 m³) öljypitoisuus oli alle 500 mg/kg, kun se kompostoinnin alussa oli 4000 mg/kg (0.4 %). Frankfurtissa kerosenilla saastunutta maata (22 000 m³) kompostoitiin aumoissa, jotka olivat suuruudeltaan 80 m x 60 m x 3 m korkeita. Öljypitoisuus oli noin 2.5 kuukauden kompostoinnin jälkeen 2000 mg/kg, kun se kompostoinnin alussa oli 5000 - 12 000 mg/kg, ja suurimmillaan 38 000 mg/kg. Kompostointi on vielä kesken, mutta todennäköisesti tässäkin tapauksessa saavutetaan lopulliseksi öljypitoisuudeksi 500 mg/kg maata (Stroh ym. 1990).

Yhdysvalloissa dieselöljyllä saastuneen maan (400 m³) keskimääräinen öljypitoisuus pieneni 10 viikon käsittelyn aikana 2100 mg/kg:sta (0.21 %) 85 mg/kg edellä mainitulla menetelmällä (von Wedel ym. 1990). Saksassa mineraaliöljyllä saastuneen maan (3000 m³) öljypitoisuus väheni samalla menetelmällä noin puolen vuoden kompostoinnilla kymmenesosaan alkuperäisestä. Ennen kompostointia maan öljypitoisuus oli keskimäärin 2500 mg/kg (0.25 %) ja korkeimmillaan 12000 mg/kg (1.2 %). Kompostoinnin jälkeen öljypitoisuus oli maassa 130-270 mg/kg (Schussler 1986).

8.2.3 Bioreaktori

Vielä kompostointia tehokkampaan orgaanisen aineen hajoamiseen päästään bioreaktorin avulla. Kompostointi tapahtuu suljetussa tilassa. Jo hyvin kehitelty laitekompostori on jo eräänlainen bioreaktori.

Bioreaktorissa voidaan jätteen hajoamisolosuhteita (lämpötilaa, happipitoisuutta, kosteutta, ravinteita, mikrobi/öljy -kontaktia) vielä enemmän säätää ja tehostaa. Laiteratkaisussa voidaan prosessin mahdolliset emissiot ja suotuvedet hallita ja käsitellä entistä tehokkaammin. Lisäksi bioreaktorin hallittujen olosuhteiden ansiosta voidaan hajotuksessa käyttää spesifisiä viljeltyjä mikrobeja (Soczo & Staps 1988).

Bioreaktori soveltuu erityisesti biologisesti vaikeasti hajoavilla aineilla saastuneille maille ja yleensä vaikeasti käsiteltäville maa-aineksille kuten savimaille (Soczo & Staps 1988, Sprenger & Ebner 1990).

Bioreaktoritekniikka on saastuneen maan puhdistuksessa vielä kokeiluasteella ja täysimittaisia käyttökokemuksia on vähän. Hollannissa on menestyksekkäästi kokeiltu bioreaktoria orgaanisilla klooriyhdisteillä saastuneen maan käsittelyssä (Soczo & Staps 1988).

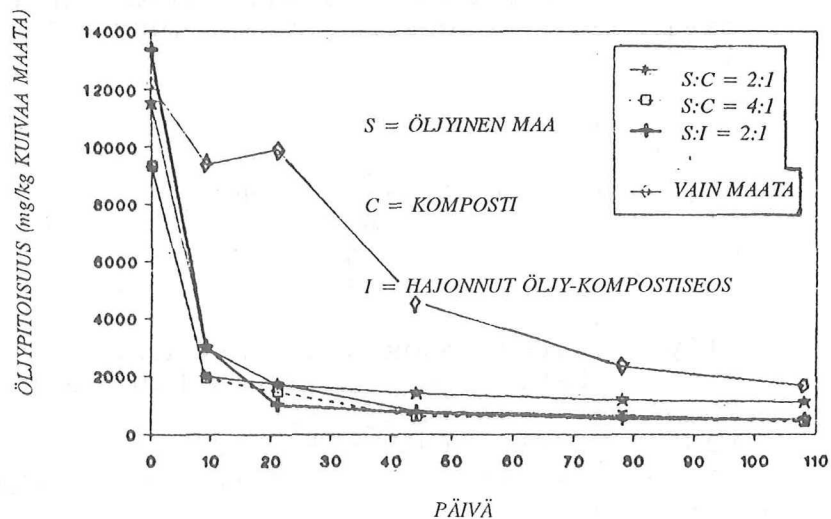
Öljyn laitekompostointitutkimuksia on maailmalla tehty vielä suhteellisen vähän (Savage ym. 1985). Suomessa Salkinoja-Salosen & Valon (1988) rumpukompostoritutkimuksessa jätteen öljypitoisuus väheni merkittävästi. Maasta, jossa öljyä oli 100-400 g/kg kuiva-ainetta (10-40 %), 70-92 % öljystä hajosi biologisesti kompostorissa 12-40 vrk:ssa.

Valon (1990) mukaan rumpukompostorin ongelma on sen suhteellisen pieni koko ja näin ollen pieni jätteen käsittelymäärä. Koska hajotettava aines pyörii reaktorin sisällä, ei reaktori voi luonteensa mukaisesti koskaan olle hyvin suuri. Sen sijaan pystyvirtaustyyppiset reaktorit; siilot voisivat käsitellä myös suuria määriä saastunutta maata.

Lähes samanlainen kuin rumpukompostori on eräs kehitetty bioreaktortyyppi. Saastunutta maata sekoitetaan pyörivässä bioreaktorirummussa, joka on 25 m pitkä ja jonka halkaisija on 3.5 m. Maata ilmastetaan ja lämmitetään puhaltamalla reaktoriin lämmintä ilmaa. Reaktoriin lisätään ravinteita ja sinne rakennetaan kastelujärjestelmä. Alustavien kokeiden mukaan dieselöljyllä saastuneessa maassa öljypitoisuus on laskenut 50-350 mg/kg:aan alkuperäisestä 1000-6000 mg/kg:sta viikon aikana noin 20 °C:ssa (van den Munchof & Veuil 1990).

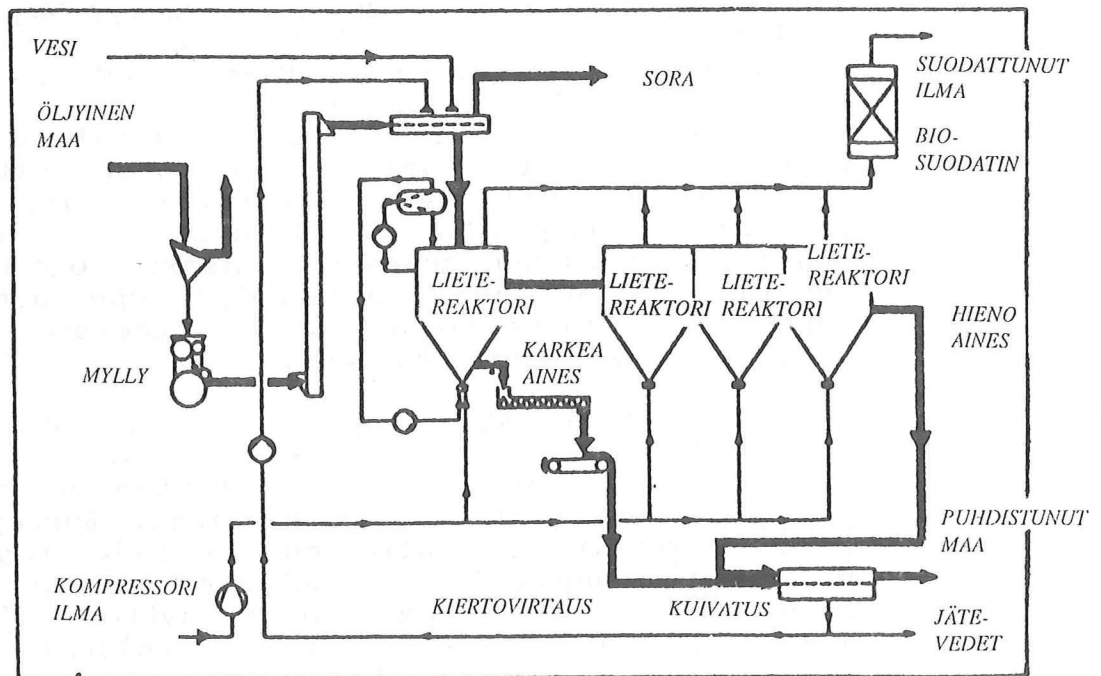
de Kreukin & Annokkeen (1988) tutkimuksissa öljyistä maata puhdistui bioreaktorikäsittelyssä yhdessä päivässä arviolta 10 g/kg. Bioreaktorikäsittelyssä saastuneen maan oma mikrobifloora on usein riittävä tehokkaaseen öljyn mikrobiologiseen hajotukseen. Sen sijaan ainakin saastuneiden sedimenttien käsittelyssä mikrobien lisääminen reaktoriin kiihdyttää öljyn hajomista (Annokkee 1990).

Lotter ym. (1990) totesivat tutkimuksessaan öljyn mikrobiologisen hajotuksen kiihtyvän, kun 3 litran lieteraktoreihin lisättiin saastuneen maan yhteydessä kompostoitua orgaanista yhdyskunta- ja puutarhajätettä. Yli 90 % öljyn hiilivedyistä hajosi mikrobiologisesti 44 päivässä. Kolmen ja puolen kuukauden kuluttua kokeen aloituksesta maan öljypitoisuus oli 300-400 mg/kg maata, kun se alunperin oli noin 10 000 mg/kg maata l. 1 % (kuva 23).



Kuva 23. Öljyn hiilivetyjen mikrobiologinen hajoaminen 3 l lieteraktoreissa. Öljyiseen maahan (S) on sekoitettu eri suhteissa kompostia (C) ja aikaisemmin kokeen hajonnutta öljy-komposti -seosta (I) (Lotter et al. 1990).

Hollannissa kehitellään parhaillaan bioreaktoria, jossa saastunut maa käsitellään kolmessa vaiheessa; kiinteänä, nesteinä ja kaasuna (kuva 24). Bioreaktori koostuu neljästä 40 m³ suuruisesta märkäreaktorista. Alkukäsittelyssä saastunut maa-aines murskataan massaksi, jonka jälkeen se joutuu ensimmäiseen reaktoriin. Tässä kaasu-neste reaktorissa maa-aines erotellaan kahdeksi eri fraktioksi; karkeaksi materiaaliksi ja hienoksi suspensioksi, jossa on suurin osa saasteista. Hieno suspensio kuljetetaan edelleen kolmeen seuraavaan kaasureaktoriin puhdistettavaksi (Kleijntjens ym. 1990).



Kuva 24. Kehitteillä oleva neljästä reaktorista koostuva bioreaktori (Kleijntjens ym. 1990).

Tällä hetkellä bioreaktorien käyttöä saastuneen maan puhdistuksessa hidastaa kehitteillä oleva teknologia ja myös reaktorien kalleus. Valon (1990) mukaan suurten bioreaktorien investointikustannukset ovat sataa kertaa suuremmat kuin vanhempaa teknologiaa edustavien rumpukompostorien.

9 Y H T E E N V E T O

Suomen ilmasto-olosuhteisiin hyvin sopiva öljyisen maan ja jätteen mikrobiologinen käsittelymenetelmä on kompostointi. Kompostoitumista on todettu tapahtuvan myös läpi talven. Kompostointi on oikein hoidettuna ympäristöystävällinen menetelmä, jossa ympäristönäkökohdat voidaan hyvin ottaa huomioon jo itse kompostointia suunniteltaessa. Kompostointi on myös esimerkiksi polttoon verrattuna hyvin halpa jätteiden käsittelymenetelmä. Yksinkertaisimmillaan se on auma, jota on tarpeen vaatiessa säännöllisesti ilmastoitava ja kasteltava. Mikrobiviljelmien lisääminen aumoihin ei välttämättä ole tarpeellista.

Öllyjalostamoissa paljon käytetty mikrobiologinen öljyn hajotusmenetelmä on peltolevitys. Se on myös halpa öljyisen jätteen ja maan käsittelymenetelmä. Peltokäsittelyn heikkoutena on sen vaatima suhteellisen laaja alue. Lisäksi ympäristönäkökohtia ei ole otettu huomioon niin tarkasti kuin

kompostoinnissa. Peltojen käyttökelpoisuus myös vähenee ajan kuluessa, kun maahan kertyy hajoamatonta pikimäistä ainetta. Haihtuvien hiilivetyjen vapautumisesta ilmaan ei myöskään tiedetä paljonkaan.

Bioreaktori edustaa vielä kehitteillä olevaa teknologiaa saastuneen maan puhdistuksessa. Reaktoreiden avulla jätteet voidaan käsitellä vielä tarkemmin kontrolloiduissa olosuhteissa ja jätteiden puhdistus nopeutuu suuresti. Lisäksi bioreaktorien avulla päästään vielä puhtaampiin lopputuotteisiin. Menetelmän kehittämistä ja soveltamista hidastaa vielä bioreaktoreiden kalleus.

In situ -menetelmät maalla ja merellä tapahtuneiden öljyonnettomuuksien puhdistuksessa ovat myös vielä kehitteillä olevaa teknologiaa. Käytännön kokemukset in situ -menetelmistä ovat vähäisiä. Euroopassa in situ -menetelmien avulla on joissain tapauksissa puhdistettu suhteellisen tehokkaasti öljyistä maata. Suomen olosuhteissa menetelmien käyttöä rajoittavat ilmasto-olosuhteet. Suomessa ei toistaiseksi ole tehty vielä yhtään mikrobiologista in situ -kunnostusta maalla tai merellä.

Merialueilla tapahtuneiden öljyonnettomuuksien ainoa käyttökelpoinen mikrobiologinen menetelmä on vielä toistaiseksi öljyn mekaaninen keruu merestä ja kompostoiminen maalla.

KIRJALLISUUS

- Aleem, A. A. 1980. Distribution and ecology of marine fungi in Sierra Leone (Tropical West Africa). *Botanica Marina*, vol. 23, s. 679-688.
- Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. New York, Wiley.
- Annokkée, G. J. 1990. MT-TNO research into the biodegradation of soils and sediments contaminated with oils and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH's). *Julk.: Arendt, F., Hinsenveld, M. & van den Brink, W. J. (toim). Contaminated Soil '90, 3rd Int. KfK/TNO Conf. on contaminated soil*, vol. 2, s. 941-945, Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers.
- Anon. 1980a. Sludge farming: a technique for the disposal of oily refinery wastes. *Concawe Report no.3/80*, 94 s.
- Anon. 1980b. Disposal techniques for spilt oil. *Concawe Report no.9/80*, 52 s.
- Anon. 1981. Revised inland oil spill clean-up manual. *Concawe Report no.7/81*, 152 s.
- Atlas, R. M. 1977. Stimulated petroleum biodegradation. *Critical Reviews in Microbiology*, vol. 5, s. 371-386.
- Atlas, R. M. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons; an environmental perspective. *Microbiological Reviews*, vol. 45, no. 1, s. 180-209.
- Atlas, R. M. & Bartha, R. 1973. Stimulated biodegradation of oil slicks using oleophilic fertilizers. *Environmental Science & Technology*, vol. 7, s. 538-541.
- Atlas, R. M., Schofield, E. A., Morelli, F. A. & Cameron, R. E. 1976. Effects of petroleum pollutant on arctic microbial populations. *Environmental Pollution*, vol. 10. no. 1, s. 35-44.
- Baker, J. M., Clark, R. B., Kingston, P. F. & Jenkins, R. H. 1990. Natural recovery of cold water marine environments after an oil spill. *Julk.: Proceedings of the 13th Arctic and Marine Oilspill Program Technical Seminar*, s. 173-177, Canada, Beauregardrinters Limited, ISBN 0-662-57535-0.
- Barenschee, E. R., Helmling, O., Dahmer, S., Del Grosso, B. & Ludwig, C. 1990. Kinetic studies on the hydrogen peroxide enhanced in situ biodegradation of hydrocarbons in water-saturated ground zone. *Julk.: Arendt, F., Hinsenveld, M. & van den Brink, W. J. (toim). Contaminated Soil '90, 3rd International KfK/TNO Conference on contaminated soil*, vol. 2, s. 1011-1018, Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers.

- Bartha, R. 1986. Biotechnology of petroleum pollutant biodegradation. *Microbial Ecology*, vol. 12, no. 1, s. 155-172.
- Bartha, R. & Atlas, R. M. 1987. Transport and transformations of petroleum: biological processes. *Julk.: Boesch, D. T. & Rabalais, N. N. (toim). Long-term environmental effects of offshore oil and gas development*, s. 287-337, London, New York, Elsevier Applied Science, ISBN 1851660941.
- Bell, C. R. & Albright, L. J. 1982. Attached and free-floating bacteria in a diverse selection of water bodies. *Applied Environmental Microbiology*, vol. 43, no. 6, s. 1227-1237.
- Berridge, S. A., Dean, R. A., Fallows, R. G. & Fish, A. 1968. The properties of persistent oils at sea. *Julk.: Hepple, P. (toim). Scientific aspects of pollution of the sea by oil*, s. 35-59, London, Institute of Petroleum.
- Bossert, I. & Bartha, R. 1984. The fate of petroleum in soil ecosystems. *Julk.: Atlas, R. M. (toim). Petroleum microbiology*, s. 435-473, New York, Macmillan Publishing Company.
- Broderic, L. S. & Cooney, J. J. 1982. Emulsification of hydrocarbons by bacteria from freshwater ecosystems. *Developments in Industrial Microbiology*, vol. 23, s. 425-434.
- Brown, L. R. 1987. Oil-degrading microorganisms. *Chemical Engineering Progress*, vol. 83, no. 10, s. 35-40.
- Brown, K. W. & Donnelly, K. C. 1983. Influence of soil environment on biodegradation of a refinery and a petrochemical sludge. *Environmental Pollution Series B*, vol. 6, no. 2, s. 119-132.
- Brown, K. W., Donnelly, K. C. & Deuel Jr, L. E. 1983. Effect of mineral nutrients, sludge application rate, and application frequency on biodegradation of two oily sludges. *Microbial Ecology*, vol. 9, no. 4, s. 363-373.
- Burton, N. F., Day, M. I. & Bull, A. T. 1982. Distribution of bacterial plasmids in clean and polluted sites in a South Wales river. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 44, no. 5, s. 1026-1029.
- Cerniglia, C. E. 1981. Aromatic hydrocarbons: metabolism by bacteria, fungi and algae. *Julk.: Hodgson, E., Blend, J. R. & Philpot, R. M. (toim). Reviews in Biochemical Toxicology*, vol. 3, s. 321-361, New York, Elsevier/North Holland.

- Cerniglia, C. E. 1982. Initial reactions in the oxidation of anthrasene by Cunninghamella elegans. Journal of General Microbiology, vol. 128, no. 3, s. 2055-2061.
- Cerniglia, C. E. 1984. Microbial transformation of aromatic hydrocarbons. Julk.: R. M. Atlas (toim). Petroleum Microbiology, s. 99-128, New York, Macmillan Publishing Company.
- Cerniglia, C. E., Gibson, T. D. & van Baalen, C. 1980a. Oxidation of naphthalene by cyanobacteria and microalgae. Journal of General Microbiology, vol. 116, s. 495-500.
- Cerniglia, C. E., Mahaffey, W. & Gibson, D. T. 1980b. Fungal oxidation of benz(a)pyrene: formation of (-)-trans-7,8-dihydroxy-7,8-dihydrobentzo(a)pyrene by Cunninghamella elegans. Biochemical and Biophysical Research Communications, vol. 94, s. 226-232.
- Chakrabarty, A. M. 1972. Genetic basis of the biodegradation of salicylate in Pseudomonas. Journal of Bacteriology, vol. 112, no 2, s. 815-823.
- Chakrabarty, A. M. 1976. Plasmids in Pseudomonas. Annual Review of Genetics, vol. 10, s. 7-30.
- Chowdhury, J. 1986. CPI goes below to remove groundwater pollutants. Chemical Engineering, vol. 9, s. 14-19.
- Colwell, R. R., Mills, A. L., Walker, J. D., Carcia-Tello, P. & Campos-P, V. 1978. Microbial ecology of the Metula spill in the straits of Magellan. Journal of Fisheries Research Board of Canada, vol. 35, no. 5, s. 573-580.
- Cooney, J. J. 1984. The fate of petroleum pollutants in freshwater ecosystems. Julk.: Atlas, R. M. (toim). Petroleum microbiology, s. 399-433, New York, Macmillan Publishing Company.
- Cooney, J. J., Silver, S. A. & Beck, E. A. 1985. Factors influencing hydrocarbon degradation in three freshwater lakes. Microbial Ecology, vol. 11, no. 2, s. 127-137.
- Dalton, H. 1980. Oxidation of hydrocarbons by methane mono-oxygenases from a variety of microbes. Advances in Applied Microbiology, vol. 26, s. 71-87.
- Davies, J. S. & Westlake, D. W. S. 1979. Crude oil utilization by fungi. Canadian Journal of Microbiology, vol. 25, no. 2, s. 146-156.
- Davis, J. P. 1967. Petroleum microbiology, New York, American Elsevier Publishing Company, s. 604.

- de Klerk, H. & van der Linden, A. C. 1974. Bacterial degradation of cyclohexane: participation of a co-oxidation reaction. *Antonie van Leeuwenhoek*, vol. 40, no. 1, s. 7-15.
- de Kreuk, J. F. & Annokkée, G. J. 1988. Applied biotechnology for decontamination of polluted soils. Possibilities and problems. *Julk.: Arendt, F., Hinsenveld, M. & van den Brink, W. J. (toim). Contaminated soil '90, 3rd International KfK/TNO Conference on contaminated soil*, vol. 1, s. 679-686, Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers.
- Dibble, J. T. & Bartha, R. 1976. The effect of iron on the biodegradation of petroleum in sea water. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 31, no. 4, s. 544-550.
- Dibble, J. T. & Bartha, R. 1979. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 37, no. 4, s. 729-739.
- Dunn, N. & Gunsalus, J. C. 1973. Transmissible plasmids coding early enzymes of naphthalene oxidation in Pseudomonas putida. *Journal of Bacteriology*, vol. 114, no.3, s. 974.
- Ensley, B. D. & Finnerty, W. R. 1980. Influence of growth substrates and oxygen on the electron transport system in Acinetobacter sp. H01-N. *Journal of Bacteriology*, vol. 142, no. 3, s. 859-868.
- Ensley, B. D., Irwin, R. M., Carreira, L. A., Hoffman, P. S. Morgan, T. V. & Finnerty, W. R. 1981. The effects of growth substrate and respiratory chain composition on bioenergetics in Acinetobacter sp. H01-N. *Journal of Bacteriology*, vol. 148, no. 2, s. 508-513.
- Fedorak, P. M. & Westlake, D. W. S. 1981. Microbial degradation of aromatics and saturates in Prudhoe Bay crude oil as determined by glass capillary gas chromatography. *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 27, no. 4, s. 432-443.
- Floodgate, G. D. 1984. The fate of petroleum in marine ecosystems. *Julk.: Atlas, R. M. (toim). Petroleum microbiology*, s. 355-397, New York, Macmillan Publishing Company.
- Foght, J. M. & Westlake, D. W. S. 1987. Biodegradation of hydrocarbons in freshwater. *Julk.: Vandermeulen, J. H. & Hruday, S. E. (toim). Oil in Freshwater: chemistry, biology, countermeasure technology*, s. 217-230, New York, Pergamon Press, ISBN 0-08-031862-2.

- Frankenberger Jr, W. T. 1988. Use of urea as a nitrogen fertilizer in bioreclamation of petroleum hydrocarbons in soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 40, no. 1, s. 66-68.
- Fukui, S. & Tanaka, A. 1979. Peroxisomes of alkane- and methanol-grown yeasts: metabolic functions and practical applications. *Journal of Applied Biochemistry*, vol. 1, s. 171-201.
- Fusey, P. & Oudot, J. 1984. Relative influence of physical removal and biodegradation in the depuration of petroleum-contaminated seashore sediments. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 15, no.4, s. 136-141.
- Ghassemi, M. 1988. Innovative in situ treatment technologies for clean-up of contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, vol.17, s.189-206.
- Gibson, D. T. 1977. Biodegradation of aromatic petroleum hydrocarbons. *Julk.: Wolfe, D. A. (toim). Fate and Effect of Petroleum Hydrocarbons in Marine Ecosystems and Organisms*, s. 36-46, New York, Pergamon Press.
- Gundlach, E. R., Boehm, P. D., Marchand, M., Atlas, R. M., Ward, D. M. & Wolfe, D. A. 1983. The fate of Amoco Cadiz oil. *Science*, vol. 221, no. 4606, s. 122-129.
- Gutnik, D. L. & Rosenberg, E. 1977. Oil tankers and pollution: A microbiological approach. *Annual Review of Microbiology*, vol. 31, s. 379-396.
- Hambrick, G. A., III, R. D. DeLaune & Patrick, W. H. Jr. 1980. Effect of estuarine sediment pH and oxidation-reduction potential on microbial hydrocarbon degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 40, no. 2, s. 365-369.
- Hada, H. S. & Sizemore, R. K. 1981. Incidence of plasmids in marine vibrio spp. isolated from an oil field in the North-West Gulf of Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 41, no. 1, s. 199-202.
- Halmö, G. 1985. Enhanced biodegradation of oil. *Julk.: Proceedings of 1985 Oil Spill Conference: Prevention, Behaviour, Control, Clean up*. s. 531-536, Washington, D. C., American Petroleum Institute.
- Halmø, G. & Hoddø, T. 1985. Kompostering av oljetilsøtt tang. *Sintet Teknisk Kjemis, Forskning ved Norges tekniske hogskole*, 7034 Trondheim-NTH, 10 s., ISBN 82-595-3951-9.
- Hammer, K. D. & Liemann, F. 1976. Primäre Oxydations Mechanismen beim Abbau Aliphatischer Kohlenwasserstoffe durch bakterielle Enzymsysteme. *Zentralblatt für Bakteriologie Abt. 1, Originale B: Hygiene*, 162, s. 169-179.

- Harvey, S., Elashvili, I., Valdes, J. J., Kamely, D. & Chakrabarty, A. M. 1990. Enhanced removal of Exxon Valdez spilled oil from Alaskan gravel by a microbial surfactant. *Bio/Technology*, vol.8, s. 228-230.
- Hasenson, B. 1984. Peltokäsittely soveltuu hyvin öljyisten jätteen hävittämiseen. *Jäte ja Ympäristö*, no.1, s. 8-10.
- Hasenson, B. 1986. Öljyisen jätteen peltokäsittely Neste OY:n tuotantolaitoksilla. Neste OY. Ympäristö ja turvallisuus. Tutkimusraportti. 17 s.
- Higgins, I. J. & Burns, R. G. 1975. *Hydrocarbons. Julk.: The Chemistry and Microbiology of Pollution*, s. 111-139, London, New York, San Francisco, Academic Press.
- Higgins, I. J., Best, D. J., Hammon, R. C. & Scott, D. 1981. Methane-oxidizing microorganisms. *Microbiological Reviews*, vol. 45, no. 4, s. 556-590.
- Hinchee, R. E., Downey, D. C. & Miller, R. N. 1990. In situ biodegradation of petroleum distillants in the vadose zone. *Julk.: Hazardous Waste Treatment: Treatment of Contaminated Soils. Proceedings of the 1990 EPA/A&WMA International Symposium*, s. 148-156.
- Huddleston, R. L. & Cresswell, L. W. 1976. Environmental and nutritional constraints of microbial hydrocarbon utilization in the soil. *Julk.: Proceedings of the 1975 England Foundation conference: The Role of Microorganisms in Recovery of Oil. Washington D. C., National Science Foundation..*
- Huurinainen 1990. Suullinen tieto.
- Jeltsch, V. 1990. Saastuneiden maa-alueiden kunnostus. Vesi- ja ympäristöhallinnon julkaisuja. Sarja A. 44.
- Jensen, V. 1975. Bacterial flora of soil after application of oily waste. *Oikos* vol. 26, no. 2, s. 152-158.
- Jobson, A., McLaughlin, M., Cook, F. D. & Westlake, D. W. S. 1974. Effect of amendments on the microbial utilization of oil applied to soil. *Applied Microbiology*, vol. 27, s. 166-171.
- Jones, D. M., Douglas, A. G., Parkes, R. J., Taylor, J., Giger, W. & Schaffner, C. 1983. The recognition of biodegraded petroleum-derived aromatic hydrocarbons in recent marine sediments. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 14, no. 3, s. 103-108.
- Kerr, R. P. & Capone, D. G. 1988. The effect of salinity on the microbial mineralization of two polycyclic aromatic hydrocarbons in estuarine sediments. *Marine Environmental Research*, vol. 26, no. 3, s. 181-198.

- Kleijntjens, R. H., Meeder, T. A. Geerdink, M. J. & Luyben, K. Ch. A. M. 1990. Design of a slurry process for the biotechnological treatment of excavated polluted soils. Julk.: Arendt, F, Hinsenveld, M, & van den Brink, W. J. (toim). Contaminated Soil '90, 3 rd Int. KfK/TNO Conf. on contaminated soil, vol 2, s. 997-998, Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers.
- Kojo, M.-R. 1988. Öljyisten jätteidien käsittely. Vesi- ja ympäristöhallituksen monistesarja no. 92, 68 s., Helsinki, Vesi- ja ympäristöhallitus.
- Käppeli, O. & Finnerty, W. R. 1979. Partition of alkane by an extracellular vesicle derived from hexadecane-grown Acinetobacter. Journal of Bacteriology, vol. 140, no. 2, s. 707-712.
- Labrie, P. & Cyr, B. 1990. Biological remediation of shoreline oily waste from marine spills. Julk.: Proceedings of the 13th Arctic and Marine Oil Spill Program Technical Seminar, Canada.
- Leahy, J. G. & Colwell, R. R. 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. Microbiological Reviews, vol. 54, no. 3, s. 305-315.
- Lee, K. & Levy, E. M. 1990. Enhancement of the natural biodegradation of condensate and crude oil on beaches of Atlantic Canada. Julk.: Ludwigsen, J. O. (toim). Proceedings 1989 Oil Spill Conference (prevention, behavior, control, clean up) 20th Anniversary Conference, s. 479-486, Washington, D. C., American Petroleum Institute publication no. 4479.
- Lee, K., Wong, C. S., Cretney, W. J., Whitney, F. A., Parsons, T. R., Lalli, C. M. & Wu, J. 1985. Microbial response to crude oil and Corexit 9527: SEAFLEXES enclosure study. Microbial Ecology, vol. 11, no. 4, s. 337-351.
- Lehtinen, K.-J. 1987. Dispersanttien toimintatavoista, niiden hyväksymisen yhteydessä käytettävistä menetelmistä ja niiden periaatteista. Alustava raportti, Suomen ympäristötutkijaryhmä Oy, MFG YT, Söderkulla, 22 s.
- Lehtomäki, M. & Niemelä, S. 1975. Improving microbial degradation of oil in soil. Ambio, vol. 4, no. 3, s.126-129.
- Lindhardt, B. & Jacobsen, J. 1990. Soil venting: removal and biodegradation of hydrocarbons from polluted soil. Julk.: Arendt, F., Hinsenveld, M. & van den Brink, W. J. (toim). Contaminated Soil '90, 3rd International KfK/TNO Conference on contaminated soil, vol. 2, s. 1067-1068, Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers.

- Lotter, S., Stegmann, R. & Heerenklage, J. 1990. Basic investigations on the optimization of biological treatment of oil-contaminated soils. Julk.: Arendt, F., Hinsenveld, M. & van den Brink, W. J. (toim). Contaminated Soil '90, 3 rd International KfK/TNO Conference on contaminated soil, vol. 2, s. 967-974, Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers.
- Lund, N.-Ch. & Gudehus, G. 1990. Large scale sample tests for a biological in situ remediation of soils polluted by hydrocarbons. Julk.: Arendt, F., Hinsenveld, M. & van den Brink, W. J. (toim). Contaminated Soil '90, 3 rd International KfK/TNO Conference on contaminated soil, vol. 1, s. 463-472. Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers.
- Markovetz, A. J. 1971. Subterminal oxidation of aliphatic hydrocarbons by microorganisms. CRC Critical Reviews in Microbiology, vol. 1, s. 225-238.
- Martikainen, Esko. 1989. Mustankorkean kaatopaikan öljykompos tointiprojekti - vuoden 1989 loppuraportti. Jyväskylän yliopisto, Ympäristön Tutkimuskeskus, 17 s.
- Martikainen, Esko. 1990. Mustankorkean kaatopaikan öljykompos tointiprojekti - vuoden 1990 loppuraportti. Jyväskylän yliopisto, Ympäristön Tutkimuskeskus, 10 s.
- Mayer, L. M. & Gloss, S. P. 1980. Buffering of silica and phosphate in a turbid river. Limnology and Oceanography, vol. 25, s. 12-22.
- McGill, W. B., Rowell, M. J. & Westlake, D. W. S. 1981. Biochemistry, ecology, and microbiology of petroleum components in soil. Julk.: Paul, E. A. & Ladds, J. N. (toim). Soil Biochemistry, vol. 5, s. 229-296, New York, Marcel Dekker.
- McIntosh, H. 1989. Oli spill dispersants: good or bad for the environment? NRC News Report, vol. 39, no. 3, s. 13-15.
- McKenna, E. J. 1972. Microbial metabolism of normal and branched chain alkanes. Julk.: Degradation of Synthetic Organic Molecules in the Biosphere: natural, pesticidal, and various other man-made compounds, Proceedings of a Conference, s. 73-97, Washington D. C., National Academy of Sciences.
- Niemelä, S. 1985. Mikrobiologiset öljyn hajotusmenetelmät. Julk.: Öljyisten jätteiden sekä jätevesien käsittely. Isinki, Insinöörijärjestöjen Koulutuskeskus. 9 s.,

INSKO 124-85 II.

- Niemi, R. M., Knuth, S. & Lundström, K. 1981. Actinomycetes and fungi in surface waters and in potable water. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 43, no. 2, s. 378-388.
- Niemi, M., Korhonen, H. & Virtanen, I. 1989. *Solu- ja molekyylibiologia*, s. 270, Espoo, Amer-yhtymä Oy, Weilin & Göös kirjapaino.
- Olivieri, R., Bacchin, P., Robertiello, A., Oddo, N., Degen, L. & Tonolo, A. 1976. Microbial degradation of oil spills enhanced by a slow-release fertilizer. *Applied Environmental Microbiology*, vol. 31, no. 5, s. 629-634.
- Palva, A. 1978. Öljyn hiilivetyjen mikrobiologinen hajoaminen ja hajoamiseen vaikuttavat tekijät maassa, Helsingin yliopiston mikrobiologian laitos, laudaturtyö, 71 s.
- Patel, T. R. & Gibson, D. T. 1974. Purification and properties of (+)-cis-naphtalene dihydrodiol dehydrogenase of Pseudomonas putida. *Journal of Bacteriology*, vol. 119, no. 3, s. 879-888.
- Perry, J. J. 1980. Propane utilization by microorganisms. *Advances in Applied Microbiology*, vol. 26, s. 89-115.
- Perry, J. J. 1984. Microbial metabolism of cyclic alkanes. *Julk.: Atlas, R. M. (toim). Petroleum Microbiology*, s. 61-97, New York, Macmillan Publishing Company.
- Pinholt, Y., Struwe, S. & Kjoller, A. 1979. Microbial changes during decomposition in soil. *Holarctic Ecology*, vol. 2, s. 195-200.
- Pirnik, M. P., Atlas, R. M. & Bartha, R. 1974. Hydrocarbon metabolism by Brevibacterium erythrogenes: normal and branched alkanes. *Journal of Bacteriology*, vol. 119, no. 3, s. 868-878.
- Pugh, G. J. F. 1974. Fungi in intertidal regions. *Verhoff. Inst. Meeresforsch. Bremerhaven*, Suppl. 5, s. 403-418.
- Rambeloarisoa, E., Rontani, J. F., Giusti, G., Duvnjak, Z. & Bertrand, J. C. 1984. Degradation of crude oil by a mixed population of bacteria isolated from sea-surface foams. *Marine Biology (Berlin)*, vol. 83, s. 67-81.
- Ramos, J. L. & Timmis, K. N. 1987. Experimental evolution of catabolic pathways of bacteria. *Microbiological Sciences*, vol. 4, no. 8, s. 228-237.
- Rehm, H. J. & Reiff, I. 1981. Mechanisms and occurrence of microbial oxidation of long-chain alkanes. *Advances in Biochemical Engineering*, vol. 19, s. 173-215.

- Reinikainen, O. 1989. Kompostointi. Ympäristö ja Terveys. vsk. 20. no. 4-5, s. 306-310.
- Roberts, J. D., Stewart, R. & Caserio, M. C. 1972. Organic Chemistry methane to macromolecules. New York, Benjamin, W. A., 850 s.
- Rontani, J. F., Bosser-Joulak, F., Rambeloarisoa, E., Bertrand, J. C., Giusti, G. & Faure, R. 1985. Analytic study of Asthart crude oil asphaltenes biodegradation. Chemosphere, vol. 14, s. 1413-1422.
- Rosenbrock, U. & Niebelschütz, H. 1990. Presentation of a soil decontamination on a petrol station by a "in situ technique. Julk.: Arendt, F., Hinsenveld, M. & van den Brink, W. J. (toim). Contaminated Soil '90, 3rd International KfK/TNO Conference on contaminated soil, vol. 2, s. 1027-1028, Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers.
- Saarela, J. 1975. Yhteenveto Vänersborgista saaduista kokemuksista öljyisten maamassojen kompostoinnista. Vesihallitus. Matkakertomus.
- Salkinoja-Salonen, M. & Valo, R. 1988. Biotekniikan sovellutukset ympäristönhuollossa. Kemia-Kemi, vol.15, no. 3, s. 255-259.
- Sandvik, S., Lode, A. & Pedersen, T. A. 1986. Biodegradation of oily sludge in Norwegian soils. Applied Microbiol. Biotechnol. vol. 23, no. 3/4, s. 297-301.
- Savage, G. M., Diaz, L. F. & Golueke, C. G. 1985. Biological treatment of organic toxic wastes. Biocycle 26 vsk. no. 7, s. 30-33.
- Shiøtz Hansen, S. 1988. Driftserfaringer fra behandling af olieforurennet jord. Forurening fra Punktkilder ATV-komiteen Vedrørende Grundvandsforurening, Vingstedcentret 2.-3. Marts 1988.
- Schwarz, J. R., Walker, J. D. & Colwell, R. R. 1975. Deep-sea bacteria: growth and utilization of n-hexadecane at in situ temperature and pressure. Canadian Journal of Microbiology, vol. 21, no. 5, s. 682-687.
- Schwefer, H.-J. 1988. Latest development of biological in situ remedial action techniques, portrayed by examples from Europe and USA. Julk.: Arendt, F., Hinsenveld, M. & van den Brink, W. J. (toim). Contaminated Soil '90, 3rd International KfK/TNO Conference on contaminated soil, vol. 1, s. 687-694, Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers.
- Schüssler, H. 1986. Mineralöl biochemisch zersetzt. Umwelt. no.4 s. 292-296.

- Schüssler, H. & Webb, J. 1988. Erfahrung mit der biologischen aufbreitung von mineralöllastetem erdreich und grundwasser. Korrespondenz Abwasser, vol. 35, no. 3, s. 236-240.
- Schüssler, H. & Kroos, H. 1990. Biological treatment of contaminated soils in regional biological decontamination centres. Julk.: Arendt, F., Hinsenveld, M. & van den Brink, W. J. (toim). Contaminated Soil '90, 3rd International KfK/TNO Conference on contaminated soil, vol. 2, s. 989-990, Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers.
- Shiaris, M. P. 1989. Seasonal biotransformation of naphthalene, phenanthrene, and benzo(a)pyrene in surficial estuarine sediments. Applied Environmental microbiology, vol. 55, no. 6, s. 1391-1399.
- Singer, M. E. & Finnerty, W. R. 1984. Microbial metabolism of straight-chain and branched alkanes. Julk.: Atlas, R. M. (toim). Petroleum microbiology, s. 1-59, New York, Macmillan Publishing Company.
- Soczo, E. R. & Staps, J. J. M. 1988. Aspects of biological soil treatment techniques in the Netherlands. Julk.: Wolf, K., van der Brink, W. J. & Colon, F. J. (toim). Contaminated soil '88, vol. 1, s. 663-670, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Song, H. G. & Bartha, R. 1990. Effects of jet fuel spills on the microbial community of soil. Applied and Environmental Microbiology, vol. 56, no. 3, s. 646-651.
- Sparrow, E. B. & Sparrow, S. D. 1989. An oil spill study - 10 years later. Agroborealis, vol. 21, no. 1, s. 5-8.
- Sprenger, B. & Ebner, H. G. 1990. Determination of the biotechnical treatability of contaminated soils. Julk.: Arendt, F., Hinsenveld, M. & van den Brink, W. J. (toim). Contaminated Soil '90, 3rd International KfK/TNO Conference on contaminated soil, vol. 2, s. 959-966. Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publisher.
- Stroh, D., Niemeyer, T. & Viedt, H. 1990. Experience in microbiological soil remediation. Julk.: Arendt, F., Hinsenveld, M. & van den Brink, W. J. (toim). Contaminated Soil '90, 3rd International KfK/TNO Conference on contaminated soil, vol. 2, s. 947-958, Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publisher.
- Sveum, P. & Ladousse, A. 1990. Biodegradation of oil in the artic: enhancement by oil-soluble fertilizer application. Julk.: Ludwigsen, J. O. (toim). Proceedings 1989 Oil Spill Conference (prevention, behavior, control, clean up) 20th Anniversary Conference, s. 439-446, Washington, D. C., American

Petroleum Institute publication no. 4479.

- Suler, D. 1979. Composting hasardous industrial wastes. *Compost Sciense/Land Utilization*. 20 vsk., no.20, s. 25-27.
- Tabatai, M. A. 1977. Effects of trace elements on urease activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 9, no.1, s. 9-13.
- Tagger, S., Bianchi, A., Julliard, M., LePetit, J. & Roux, B. 1983. Effect of microbial seeding of crude oil in seawater in a model system. *Marine Biology (Berlin)*, vol. 78, s. 13-20.
- Thomas, J. M., Yordy, J. R., Amador, J. A. & Alexander, M. 1986. Rates of dissolution and biodegradation of water-insoluble organic compounds. *Applied Environmental Microbiology*, vol. 52, no. 2, s. 290-296.
- Törrönen, M. 1990. Mikrobiologiset menetelmät hajukaasujen, maaperän ja pohjaveden puhdistuksessa. Teknisen Korkeakoulun diplomityö, prosessi ja materiaalitekniikan osasto.
- Valo, R. 1990. Suullinen tieto.
- van den Berg, R., Verheul, J. H. A. M. & Eikelboom, D. H. 1990. In situ bio restoration of a subsoil, contaminated with gasoline. Julk.: Arendt, F., Hinsenveld, M. & van den Brink, W. J. (toim). *Contaminated Soil '90, 3rd International KfK/TNO Conference on contaminated soil*, vol. 2, s. 1025-1026, Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers.
- van den Munckhof, P. M. & Veul M. F. X. 1990. Production-scale trials on the decontamination of oil-polluted soil in a rotating bioreactor at field capacity. Julk.: Arendt, F., Hinsenveld, M. & van den Brink, W. J. (toim). *Contaminated Soil '90, 3rd International KfK/TNO Conference on contaminated soil*, vol. 2, s. 993-995, Dordrecht, Boston, London, Kluwer Academic Publishers.
- Verstraete, W., Vanlooche, R., de Borger, R. & Verlinge, A. 1976. Modelling of the breakdown and the mobilization of hydrocarbons in unsaturated soil layers. Julk.: Sharpely, J. M. & Kaplan, A. M. (toim). *Proceedings of the 3rd International Biodegradation Symposium*, London, Applied Science Publishers Ltd.
- Vestal, J. R. 1984. The metabolism of gaseous hydrocarbons by microorganisms. Julk.: Atlas, R. M. (toim). *Petroleum Microbiology*, s. 129-152, New York, Macmillan Publishing Company.

- Virtanen, E. 1990. Kuuslahden lietealtaiden poistaminen kompostoimalla. Hämeenlinnan teknillinen oppilaitos, ympäristökurssi 7.4. 1990, raportti.
- Visscher, K., Brinkman, J. & Soczo, E. R. 1990. The dutch research and development program for biological hazardous waste treatment. Julk.: Hazardous Waste Treatment: Treatment of Contaminated Soils. Proceedings of the 1990 EPA/A&WMA International Symposium, s. 161-175.
- von Wedel, R. J., Hater, G. R., Farrel, R. & Goldsmith, C. D. 1990. Excavated soil bioremediation for hydrocarbon contaminations using recirculating leachbed and vacuum heap technologies. Julk.: Hazardous Waste Treatment: Treatment of contaminated soils. Proceedings of the 1990 EPA/A&WMA International Symposium, s. 240-252.
- Walker, J. D., Colwell, R. R. & Petrakis, L. 1975. Degradation of petroleum by alga, Prototheca zophi. Applied Microbiology, vol. 30, no. 1, s. 79-81.
- Ward, D. M. & Brock, T. D. 1978. Hydrocarbon biodegradation in hypersalinen environments. Applied Environmental Microbiology, vol. 35, no. 2, s. 353-359.
- Ward, D., Atlas, R. M., Boehm, P. D. & Calder, J. A. 1980. Microbial biodegradation and the chemical evolution of Amoco Cadiz oil pollutants. Ambio, vol. 9, no. 6, 277-283.
- Werner, P. 1989. Kritische betrachtung biologischer sanierungstechniken bei ehemaligen gaswerksgeländen. gwf - Das Gas- und Wasserfach, 130, Jahrgang 8.
- Westlake, D, W. S, Jobson, A., Philippe, R. & Cook, F. D. 1974. Biodegradability and crude oil composition. Canadian Journal of Microbiology, vol. 20, no. 7, s. 915-928.
- Williams, P. A. & Murray, K. 1974. Metabolism of benzoate and the methylbenzoates by Pseudomonas putida (arvilla) mt-2: evidence for the existence of a TOL plasmid. Journal of Bacteriology, vol. 120, no. 1, s. 416-423.
- Wilson, J. T. & Ward, C. H. 1986. Opportunities for bioremediation of aquifers contaminated with petroleum hydrocarbons. Journal of Industrial Microbiology, vol. 27, s. 109-116.
- Yen, K.-M. & Serdar, C. M. 1988. Genetics of naphthalene catabolism in Pseudomonads. CRC Critical Reviews in Microbiology, vol. 15, no. 3, s. 247-267.
- Yrjälä, K. 1991. Suullinen tieto.

- Zepp, R. G., Baughman, G. L. & Schlotzhauer, P. F. 1981. Comparison of photochemical behaviour of various humic substances in water. I. Sunlight induced reactions of aquatic pollutants photosensitized by humic substances. *Chemosphere*, vol.10, s. 109-117.
- Zuniga, M. C., Durham, D. R. & Welch, R. A. 1981. Plasmid- and chromosome-mediated dissimilation of naphthalene and salicylate in Pseudomonas putida PMW-1. *Journal of Bacteriology*, vol. 147, no. 3, s. 836-843.

VESI- JA YMPÄRISTÖHALLINNON JULKAISUJA

1. Melanen, Matti (toim.): Julkaiseminen vesi- ja ympäristöhallinnossa. Helsinki 1987.
2. Heikkilä, Raimo: Kyrönjoen deltan sedimenttitutkimus 1983 - 1985. Helsinki 1986.
3. Nyman, Kurt; Anttila, Marja-Eliisa; Lax, Hans-Göran & Sarvala, Jouko: Koskien pohjaeläimistö jokien laatuluokittelun perustana.
Nyman, Kurt; Anttila, Marja-Eliisa & Lax, Hans-Göran: Pohjaeläinnäytteenotto käsihaavilla virtaavasta vedestä. Helsinki 1986.
4. Vesistöhankeiden vaikutusten arviointi. Helsinki 1986.
5. Talsi, Tuija: Porvoon edustan merialueen tila ja sen kehitys vuosina 1965 - 1984. Helsinki 1987.
6. Lax, Hans-Göran: Vattenkvalitet och longitudinell zonerings hos makrozoobentos i forsavsnitt i Malax å (västra Finland). Helsinki 1987.
7. Korhonen, Markku & Oikari, Aimo: Järvisimpukka (*Anodonta piscinalis*) kloorifenolien ilmentäjänä Etelä-Saimaalla. Helsinki 1987.
8. Pitkänen, Heikki; Kangas, Pentti; Miettinen, Veijo & Ekholm, Petri: The state of the Finnish coastal waters in 1979 - 1983. Helsinki 1987.
9. Forsius, Martin: Suomen järvien alueellinen happamuustilanne. Helsinki 1987.
10. Laikari, Hannu: Aktiivilietepuhdistamon pystyselkeyttimen lietepatjan simulointimalli. Helsinki 1987.
11. Palko, Jukka & Saari, Markus: Lapväärtin-Isojoen vesistöalueella sijaitsevan Storsjön järvi-kuivion happamat sulfaattimaat.
Palko, Jukka & Myllymaa, Urpo: Happamien sulfaattimaiden vesistövaikutuksista, esimerkkinä Limingan Tupoksen täydennyskuivatusalue.
Palko, Jukka; Räsänen, Matti & Alasaarela, Erkki: Luodon-Öjanjärven valuma-alueen maaperän ja vesistön happamuuskartoitus. Helsinki 1987.
12. Eloranta, Pertti: Hapro-projektin perifytonleviä koskevat tutkimukset vv. 1984 - 1985.
Huttunen, Pertti; Hovi, Arto & Hämäläinen, Heikki: Virtaavien vesien pohjaeläimet ja happamoituminen.
Kortelainen, Pirkko: Orgaanisen aineen vaikutus pintavesien happamuuteen - kirjallisuusselvitys. Helsinki 1987.
13. Nenonen, Marjaleena (toim.): Kemijärven tila ja kalatalous. Helsinki 1987.
14. Manninen, Pertti: *Gonyostomum semen* (Ehrenb.) Dies. Raphidophyceae kannan tiheys ja elinolosuhteet humuspitoisissa lammissa. Helsinki 1987.
15. Vesihuoltolaitokset 31.12.1986. Helsinki 1987.
16. Nybom, Carita: Vesikasvien poiston koetoiminta vuosina 1972 - 1986. Helsinki 1988.
17. Lax, Hans-Göran & Vainio, Taru: Återhämtning hos makrozoobentos i littoralen och på mjukbotten efter Eira olyckan.
Lax, Hans-Göran & Vainio, Taru: Akvarietest av responsen på olja och dispergeringsmedel hos *Lymnaea peregra* (mollusca).
Lax, Hans-Göran & Vainio, Taru: Raakaöljyn vaikutus *Lymnaea peregrina* käyttäytymiseen akvaariokokeen perusteella. Helsinki 1988.
18. Heikkinen, Kaisa & Alasaarela, Erkki: Happamoituneiden vesistöjen neutralointi - kirjallisuuskatsaus. Helsinki 1988.
19. Palko, Jukka: Happamien sulfaattimaiden kuivatus ja kalkitus Limingan koekentällä 1984 - 1987. Helsinki 1988.
20. Vesistöjen laadullisen käyttökelpoisuuden luokittaminen. Helsinki 1988.
21. Palko, Jukka; Merilä, Eero & Heino, Soini: Maankuivatuksen suunnittelu happamilla sulfaattimailla. Helsinki 1988.
22. Pitkänen, Heikki; Puolanne, Juhani; Pietarila, Matti; Lääne, Ain; Loigu, Enn; Kuslap, Peep & Raia, Tiit: Pollution load on the Gulf of Finland in 1982 - 1984. Helsinki 1988.
23. Airila, Jukka: Bishopin vakavuuslaskentamenetelmän integraaliratkaisu ja minimivarmuuskertoimen määrääminen gradienttimenetelmällä. Helsinki 1988.

24. Lätti, Mervi: Vesiensuojelu ja kansanliikkeet. Helsinki 1988.
25. Hynninen, Pekka: Veden laadun kehityksestä Kiiminkijoen vuosina 1971 - 1985. Helsinki 1988.
26. Ruoppa, Marja & Ojala, Tiina: Ahventutkimukset Outokumpu Oy:n Kokkolan tehtaiden edustan merialueella vuosina 1984 ja 1985.
Nakari, Tarja & Ruoppa, Marja: Tervakoski Oy:n jätevesien vaikutuksista seeprakalan mätiin ja kuoriutuneisiin poikasiin sekä kirjolohien elintoi-
mintoihin.
Rekolainen, Seppo & Kauppi, Lea: Arvio Maatalous 2000 -komitean esittä-
mien toimenpiteiden vaikutuksista ympäristöön.
Pitkänen, Heikki & Kettunen, Ilpo: Sorannoston vaikutukset rannikkove-
sialueen tilaan: itäisen Suomenlahden, erityisesti Pyhtään edustan
vedenlaatu ja siihen vaikuttavat tekijät. Helsinki 1988.
27. Heinonen, Pertti & Hongell, Harri: Oulun läänin Pyhäjärven rehevöitymi-
nen kesällä 1985.
Ranta, Eeva: Kuorasjärven ja Iso-Allasjärven vesikasvillisuus vuonna
1984. Helsinki 1988.
28. Vesihuoltolaitokset 31.12.1987. Helsinki 1988.
29. Reinikainen, Asta: Bioroottorit ja biosuodin asumisjäteveden käsittelys-
sä. Helsinki 1988.
30. Nyroos, Hannele: Veden laadun arviointi vesiensuojelun suunnittelussa.
Helsinki 1988.
31. Heitto, Lauri: Vesikasvit ja ilmaperäinen happamoituminen suomalaisissa
metsäjärvissä.
Huttunen, Pertti & Hämäläinen, Heikki: Purojen minimi-pH:n ennustaminen
pohjaeläinten avulla.
Meriläinen, Jarmo & Hynynen, Juhani: Happamien ja happamoitumiselle
herkkien metsäjärvien pohjaeläimistö.
Turkia, Jaana: Sedimentin piilevät ja järvien happamoituminen.
Helsinki 1989.
32. Mononen, Paula: Enso-Gutzeit Oy:n Pankakosken kartonkitehtaan erityis-
haittavaikutukset Lieksanjoessa.
Nakari, Tarja & Miettinen, Veijo: Enso-Gutzeit Oy:n Pankakosken karton-
kitehtaan jätevesien vaikutuksista 2-kesäisten kirjolohien (*Salmo*
Gairdneri R.) elintoi-
mintoihin ja vesikirpun (*Daphnia Magna* L.) poikas-
ten elinkykyyn. Helsinki 1989.
33. Lehtonen, Kari: Öljyn ja dispersantin vaikutuksista Merenkurkun sinisim-
pukoihin. Helsinki 1989.
34. Lakso, Esko; Lindroos, Sirpa & Weppling, Kjell: Neutralointiohjeet
happamien sulfaattimaiden valumavesille. Helsinki 1989.
35. Kännö, Sakari & Salonen, Erno: Kalastus, kalakannat ja istutusten
vaikutukset Kemijoen rakentamattomassa latvaosassa Savukoskella vuosina
1979 - 1985.
Kännö, Sakari & Anttinen, Pertti: Kemijoen vesistön suurimpien jokien
kalataloudellinen tila 1980-luvun alkupuolella. Helsinki 1989.
36. Marja-aho, Jari & Koskinen, Kirsti: Turvetuotannon vesistövaikutukset.
Helsinki 1989.
37. Siirala, Maisa (toim.): Tammisaaren saaristoprojekti. Helsinki 1989.
38. Mäkinen, Päivi: Happamoituminen ja hapan pohjavesi haja-asutusalueiden
vesihuollon ongelmana. Helsinki 1989.
39. Vesilaitosten veden laatu vuonna 1987. Helsinki 1989.
40. Tolonen, Eira & Myllymaa, Urpo: Kiiminkijoen vesistöalueen järvien tila
ja käyttökelpoisuusluokitus. Helsinki 1989.
41. Siuntionjokineuvottelukunta: Siuntionjoen vesistön käytön ja suojelun
yleissuunnitelma. Helsinki 1989.
42. Vilhunen, Oili: Hankoa ympäröivän merialueen tila vuosina 1976 - 1986.
Helsinki 1989.
43. Vantaanjoen vesistön vesiensuojelun toimenpideohjelma. Helsinki 1990.
44. Jeltsch, Ulrich: Saastuneiden maa-alueiden kunnostus. Helsinki 1990.
45. Avohakkuun ja metsäojituksen vaikutukset purovesien laatuun Nurmestutkimuksessa.

46. Heikkilä, Raimo: Vaasan läänin uhanalaiset suokasvit. Helsinki 1990.
47. Korkka-Niemi, Kirsti: Tutkimus kaivovesien happamoitumisesta Suomessa. Helsinki 1990.
48. Kauppi, Lea; Sandman, Olavi; Knuuttila, Seppo; Eskonen, Kristiina; Liehu, Anita; Luokkanen, Sinikka & Niemi, Maarit: Maankäytön merkitys vesien käytölle haitallisten sinileväkukintojen esiintymisessä. Helsinki 1990.
49. Heikkinen, Kaisa & Visuri, Anna: Orgaanisten aineiden merkityksestä ja pidättymisestä virtaavan veden ekosysteemissä. Heikkinen, Kaisa & Visuri, Anna: Turvetuotannon typpikuormituksen vaikutuksista virtaavissa vesissä. Helsinki 1990.
50. Pitkänen, Heikki; Kangas, Pentti; Sarkkula, Juha; Lepistö, Liisa; Hällfors, Guy & Kauppila, Pirkko: Veden laatu ja rehevyys Itäisellä Suomenlahdella. Raportti vuosien 1987 - 88 tutkimuksista. Helsinki 1990.
51. Hirvi, Juha-Pekka (toim.): Suomenlahden öljyvahinko 1987. Helsinki 1990.
52. Levinen, Riitta: Puhdistamolietteen viljelykäytön edellytykset. Helsinki 1990.
53. Niemi, Reino A: Makrofyytit vesien tilan seurannassa. Helsinki 1990.
54. Lammassaari, Veikko: Uitto ja sen vesistövaikutukset. Helsinki 1990.
55. Kainuun vesi- ja ympäristöpiirin toiminnan suuntaviivat 1990-luvun alkupuoliskolla. Helsinki 1990.
56. Perälä, Jaakko & Reuna, Marja: Lumen vesi-arvojen alueellinen vaihtelu Suomessa. Helsinki 1990.
57. Haja-asutuksen vedenhankinnan kehittäminen. Helsinki 1990.
58. Puustinen, Jukka: Typen merkitys rannikkovesien rehevöitymisessä. Helsinki 1990.
59. Oulun vesi- ja ympäristöpiiri: Pohjois-Pohjanmaan vedet ja ympäristö 1990-luvulla. Helsinki 1990.
60. Saviranta, Leena & Katko, Tapio (toim.): Kansainvälinen vesihuollon vuosikymmen 1981 - 1990 Suomessa. Helsinki 1990.
61. Katko, Tapio (ed.): The international drinking water and sanitation decade 1981 - 1990 in Finland. Helsinki 1990.
62. YV-projekti: Kokemuksia osallistumisesta ja vaikutusten arvioinnista vesiensuojelun suunnittelussa. Helsinki 1990.
63. Antikainen, Sari; Smolander, Ulla & Järvinen, Olli: Näytteenottomenetelmän luotettavuus luonnonvesien raskasmetalliseurannassa. Helsinki 1990.
64. Saarela, Jouko: Kaivosjätteiden geoteknisistä ominaisuuksista ja ympäristövaikutuksista. Helsinki 1990.
65. Turun vesi- ja ympäristöpiiri: Vesien käyttö ja hoito 1990-luvulla Varsinais-Suomi ja Etelä-Satakunta. Helsinki 1990.
66. Mukherjee, Arun B: The use of chlorinated paraffins and their possible effects in the environment. Helsinki 1990.
67. Assmuth, Timo: Kaatopaikkojen ongelmajätteiden ympäristövaikutukset. Riskikaatopaikkatutkimuksen pääraportti. Helsinki 1990.
68. Porvoonjoen kuormitusselvitystyöryhmä; Lehtonen, Eija & Penttilä, Sirpa (toim.): Porvoonjoen kuormitusselvitys. Helsinki 1991.
69. Mikkelin vesi- ja ympäristöpiiri: Mikkelin läänin vesien hoito 1990-luvulla. Helsinki 1991.
70. Louekari, Kimmo; Saarikoski, Heli & Joki-Kokko, Eeva: Kadmium ympäristössä. Helsinki 1991.
71. Kokkolan vesi- ja ympäristöpiiri: Keski-Pohjanmaan vedet ja ympäristö. Helsinki 1991.
72. Freindling, Alexander & Heitto, Lauri: Primary production of inland waters. Helsinki 1991.
73. Pennanen, Jussi: Toutain Kokemäenjoen keskiosan ja Loimijoen järjestelyn vaikutusalueella. Helsinki 1991.
74. Hildén, Mikael; Hakaste, Tapio; Korhonen, Pekka & Rahikainen, Eljas: Kokemäenjoen keskiosan ja Loimijoen kalatalouden intressianalyysi. Helsinki 1991.
75. Ihme, Raimo; Heikkinen, Kaisa & Lakso, Esko: Pintavalutus turvetuotanto-alueiden valumavesien puhdistuksessa. Helsinki 1991.

1991-1992

ISBN 951-47-4720-8
ISSN 0786-9592